
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

Recherches sur le traitement des trypanosomiasés

PAR MM. A. LAVERAN ET A. THIROUX.

Lingard, le premier, a conseillé l'emploi de l'acide arsénieux dans le traitement d'une trypanosomiasé, le Surra de l'Inde ; il est à noter que Lingard recommande de faire suivre le traitement par l'acide arsénieux, chez les chevaux, d'un traitement par l'iode double d'arsenic et de mercure ¹. On verra plus loin que l'association du mercure à l'arsenic a été préconisée dans ces dernières années et qu'elle a donné de bons résultats à différents observateurs dans le traitement des trypanosomiasés animales.

D. Bruce, au Zouloulant, a employé l'arsénite de soude dans le traitement du Nagana et il a constaté que cette médication prolongeait la vie des animaux malades, mais ne permettait presque jamais d'obtenir des guérisons ².

Dès 1904, l'un de nous signalait l'efficacité de l'acide arsénieux dans les infections produites chez le rat par *Tr. gambiense* et indiquait que la dose efficace était de 0^{mgr},1 d'acide arsénieux pour 20 gr. d'animal, soit 1 milligramme pour un rat de 200 grammes ³; l'acide arsénieux était employé sous forme d'arsénite de soude.

Broden, Greig et Gray, Dutton, Todd et Christy ont employé l'acide arsénieux ou l'arsénite de soude dans le traitement de la trypanosomiasé humaine.

Broden a fait à ses malades des injections hypodermiques de liqueur de Fowler diluée à moitié. Des injections correspondant à 10 et 15 milligrammes d'acide arsénieux ont été

1. LINGARD, *Report on Surra*, t. II, part. 1, Bombay, 1899.

2. D. BRUCE, *Rapports sur le Nagana*, 1895 et 1896.

3. A. LAVERAN, Action du sérum humain sur quelques trypanosomes pathogènes ; action de l'acide arsénieux sur *Tr. gambiense*, *Acad. des Sc.* 22 février 1904.

bien supportées. Le nombre des trypanosomes a notablement diminué à la suite de ces injections, mais les parasites n'ont pas disparu d'une manière définitive ¹.

Greig et Gray ont donné à des nègres adultes atteints de trypanosomiase des doses d'acide arsénieux de 10 à 20 milligrammes; ils ont constaté des améliorations à la suite de ce traitement ².

L'état d'un malade soumis par Dutton, Todd et Christy au traitement arsénical s'est beaucoup amélioré ³.

L'action des arsénicaux sur les trypanosomes est remarquable; on arrive facilement à l'aide de cette médication à faire disparaître, en 24 ou 48 heures, les trypanosomes de la grande circulation; malheureusement, les parasites reparaissent presque toujours, alors même que le traitement arsénical est prolongé ⁴. On a donc été conduit à rechercher des médications plus efficaces.

Ehrlich et Shiga ont montré qu'une couleur rouge d'aniline de la série benzopurpurine à laquelle ils ont donné le nom de *trypanroth* avait une action très marquée sur les trypanosomes et ils ont réussi à guérir des souris infectées avec le trypanosome du Mal de caderas en les traitant par le trypanroth ⁵. Le trypanroth employé seul s'est montré moins efficace dans le traitement d'autres trypanosomiasés ou même dans le traitement du Mal de caderas chez d'autres animaux que les souris.

L'un de nous a obtenu de bons résultats, dans le traitement de plusieurs trypanosomiasés, en associant la médication arsénicale et la médication par le trypanroth ⁶.

Différents animaux (souris, rats, chiens, singes), infectés avec *Tr. Evansi*, *Tr. gambiense* ou *Tr. equiperdum*, ont été guéris à l'aide de ce traitement mixte.

Wendelstadt et Fellmer ont préconisé le vert brillant et ont obtenu des succès, dans le traitement des trypanosomiasés en associant le vert brillant à l'atoxyl ⁷.

1. BRODEN, *La trypanosomiase chez l'Européen*, Bruxelles, 1905.

2. GREIG et GRAY, *R. Soc. Rep. of the Sleep. Sicken. Commis.*, 1905.

3. *Liverpool Sch. of trop. med.*, Mem. XIII, pp. 89-97.

4. A. LÁVERAN et F. MESNIL, *Trypanosomes et trypanosomiasés*, Paris, 1904, p. 163.

5. P. EHRLICH et K. SHIGA, *Berlin. klin. Wochenschr.*, 28 mars et 4 avril 1904.

6. A. LÁVERAN, *Acad. des Sciences*, 4 juillet 1904, 30 janvier, 17 avril et 10 juillet 1905.

7. H. WENDELSTADT et T. FELLMER *Zeitschr. f. Hyg. u. Infectionen kr.*, 1906 et *Sitzungsberichte der Niederrh. Gesellsch. f. Natur. u. Heilkunde zu Bonn*, février 1907.

Mesnil, Nicolle et Aubert ont expérimenté, chez les animaux atteints de différentes trypanosomiasés, plusieurs couleurs de benzidine; une de ces couleurs s'est montrée particulièrement active ¹.

Ehrlich a constaté que le chlorhydrate de parafuchsine était doué d'une efficacité assez grande, au moins dans certaines trypanosomiasés et chez certaines espèces animales ².

L'emploi des matières colorantes présente malheureusement des inconvénients; les essais de ces médicaments faits dans le traitement de la trypanosomiasé humaine dont la guérison est le but principal à atteindre n'ont pas été favorables.

En 1905, W. Thomas de l'École de Médecine tropicale de Liverpool a appelé l'attention sur les propriétés de l'atoxyl ou anilarsinate de soude ³.

L'activité de l'atoxyl dans le traitement des trypanosomiasés est remarquable; elle a été bien mise en relief par les recherches de Ayres Kopke, de Broden et Rodhain, de Koch, de van Campenhout, de L. Martin, de Thiroux et d'Anfreville, de A. Breinl et J.-L. Todd, de Hollebeke sur l'emploi de l'atoxyl dans le traitement de la trypanosomiasé humaine ⁴.

Les trypanosomes disparaissent rapidement du sang sous l'influence de la médication atoxylique, les glandes lymphatiques hypertrophiées reprennent leur volume normal, les symptômes nerveux s'amendent, l'état général s'améliore et l'on conçoit que les premiers observateurs qui ont employé l'atoxyl aient pu se faire illusion sur l'efficacité de ce médicament.

Une expérience prolongée a démontré que si l'atoxyl pro-

1. F. MESNIL, M. NICOLLE et P. AUBERT, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1907.

2. P. EHRLICH, *Berlin. klin. Wochenschr.*, mars 1907. R. KOCH qui a expérimenté une série de matières colorantes dans le traitement de la trypanosomiasé humaine n'a pas obtenu de bons résultats de ces médications. *Deutsche med. Wochenschr.*, 14 nov. 1907.

3. H. W. THOMAS, *Proceed. of the R. Soc.*, 11 mai 1905 et *Brit. med. journ.*, 27 mai 1905, H. W. THOMAS et A. BREINL, *Liverpool Sch. of trop. med.*, Mem. XVI, octobre 1905, p. 52. — P. EHRLICH, et A. BERTHEIM, *Berichte der deutschen chemischen Gesellsch.*, Berlin, 1907 et E. FOURNEAU, *Journal de pharmacie et de chimie*, 1^{er} juin 1907.

4. AYRES KOPKE, *Congrès internat. de médecine de Lisbonne*, avril 1906 et *Medicina contemporanea*, Lisbonne, 1907. — A. BRODEN et J. RODHAIN, *Arch. f. Schiffs u. Tropen Hygiene*, 1906. — R. KOCH, *Deutsche med. Wochenschr.*, 20 déc. 1906 et 10 janv. 1907. — E. v. CAMPENHOUT, *Acad. R. de méd. de Belgique*, janvier 1907. — A. BREINL et J. L. TODD, *Brit. med. journal*, 19 janvier 1907. — A. LAVERAN. *Rapport à l'Acad. de médecine*, 26 février 1907. — L. HOLLEBEKE, *Acad. R. de méd. de Belgique*, 1907.

duisait des améliorations remarquables dans l'état des malades, il guérissait bien rarement et que des traitements intensifs continués pendant une année et même davantage ne mettaient pas à l'abri des rechutes. Ayres Kopke a cité le cas d'un malade traité depuis 15 mois, ayant reçu 33 injections sous-cutanées d'atoxyl (de 1 gramme à 1^{er},50 chaque) qui avait encore des trypanosomes dans le liquide cérébro-spinal et qui est mort après avoir présenté une série d'attaques épileptiformes.

Ehrlich a montré que chez les animaux traités par différents produits et notamment par l'atoxyl, on obtient des races de trypanosomes qui résistent à ces produits. Une race de trypanosomes résistante à l'atoxyl, l'est encore au 103^e passage ¹. Cette donnée est d'un grand intérêt au point de vue de la thérapeutique des trypanosomiasés; elle permet de comprendre l'insuccès des médications prolongées quand on ne fait usage que d'un seul médicament et les succès obtenus avec des médications combinées.

D'autre part, il a été démontré que l'atoxyl pouvait déterminer des accidents graves et en particulier la perte de la vision par névrite optique ².

Il paraît évident aujourd'hui que l'introduction de l'atoxyl dans la thérapeutique des trypanosomiasés, si utile qu'elle ait été, n'a pas résolu complètement le problème et que la recherche de médications plus efficaces et moins dangereuses s'impose.

Moore, Nierenstein et Todd ont essayé une médication mixte par l'atoxyl et le mercure qui leur a donné de bons résultats dans le traitement du Nagana expérimental chez les rats. Le mercure a été employé sous la forme de bichlorure de mercure (solution à 1 0/00), en injections hypodermiques ou sous forme de solution de Donovan (iodure de mercure 1 0/0 et iodure d'arsenic 1 0/0).

Les rats infectés avec *Tr. Brucei* recevaient 0 c. c., 50 de la solution à 5 0/0 d'atoxyl et, 4 jours après, 2 c. c. de la solution

1. P. EHRLICH, *Berlin. klin. Wochenschr.*, mars 1907, et *Journal of the R. Institute of public health*, août 1907.

2. FIRKET, *Acad. R. de médecine de Belgique*, 26 janvier 1907. — AYRES KOPKE, *Communic. à la Conférence internationale relative à la prophylaxie de la maladie du sommeil*, Londres, juin 1907. — HALLOPEAU, *Acad. de médecine*, 9 juillet 1907. — R. KOCH, *Deutsche med. Wochenschr.*, 14 nov. 1907. D'après Koch ces accidents ne se produisent jamais quand on ne donne pas de doses d'atoxyl supérieures à 0^{er}, 50.

de sublimé à 1 0/00. Sur 25 rats traités, 13 ont survécu¹. Tous les témoins traités uniquement par l'atoxyl sont morts.

Il n'est pas facile de comprendre comment les sels mercuriels qui, employés isolément, sont sans action sur les trypanosomes, deviennent actifs quand on les associe à l'atoxyl, mais cette difficulté n'enlève rien à l'intérêt des faits observés par Moore, Nierenstein et Todd. Quand une médication est efficace, c'est le principal; il est temps de rechercher ensuite la cause de cette efficacité.

L'acide arsénieux, délaissé pour l'atoxyl, a été remis en honneur récemment par Loeffler et Rühs². Ces observateurs ont expérimenté sur des cobayes infectés de Nagana. L'acide arsénieux en solution à 1 0/00 était injecté dans le péritoine ou bien introduit *per os*. Le meilleur mode d'administration consisterait à donner les doses efficaces (6 milligr. par kilogr. d'animal, *per os*) à 5 jours d'intervalle; 5 doses et parfois 3 suffiraient pour obtenir la guérison.

L'acide arsénieux pourrait être employé aussi comme préventif des trypanosomiasés, au même titre que le quinquina comme préventif du paludisme.

Nous avons pensé qu'il était utile de répéter les expériences de Moore, Nierenstein et Todd, ainsi que celles de Loeffler et Rühs; nous avons fait en outre des recherches sur l'utilisation du trisulfure d'arsenic, de l'iodure d'arsenic et de l'acide arsénieux associés à l'atoxyl dans le traitement des trypanosomiasés³.

Nous étudierons successivement les questions suivantes :

I. — Valeur du traitement mixte par l'atoxyl et les sels de mercure.

II. — Valeur curative et préventive de l'acide arsénieux.

III. — Traitement mixte par l'atoxyl et le trisulfure d'arsenic.

IV. — Traitement mixte par l'atoxyl et l'iodure d'arsenic.

V. — Traitement mixte par l'atoxyl et l'acide arsénieux.

1. B. MOORE, M. NIERENSTEIN et J. L. TODD, *Annals of trop. med. a. parasitology*, juin 1907 et *Bio-chemical journal*, 1907, t. II, nos 5 et 6. — H. G. PLIMMER et J. D. THOMPSON, *R. Soc.*, 20 juillet 1907. — NIERENSTEIN, *Lancet*, 27 juillet 1907.

2. F. LOEFFLER et K. RUHS, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1907, n° 34.

3. Les premiers résultats de nos recherches ont été résumés dans une note communiquée à l'Académie des Sciences, le 4 novembre 1907.

Les expériences ont porté sur des cobayes ou sur des rats infectés avec *Tr. Evansi*, parfois avec d'autres trypanosomes; le traitement n'était commencé que lorsque les trypanosomes étaient nombreux ou assez nombreux dans le sang.

I

VALEUR THÉRAPEUTIQUE DU TRAITEMENT MIXTE PAR L'ATOXYL ET LES SELS DE MERCURE.

Les expériences ont porté sur des cobayes inoculés avec le Surra de Maurice.

Les solutions employées ont été : une solution d'atoxyl dans l'eau distillée à 1 0/0; une solution de biiodure de mercure et d'iodure de potassium, 1 gramme de chaque, dans eau distillée 1000 grammes; une solution de sublimé dans l'eau distillée à 1 0/00.

Les doses maximums que peut supporter un cobaye de 400 à 600 grammes sont de : 2^{cgr}, 50 d'atoxyl en deux doses, à 24 heures d'intervalle; 3 milligrammes en deux doses ou 4 milligrammes en 3 doses de biiodure de mercure, à 48 heures d'intervalle; 4 milligrammes en deux doses ou 6 milligrammes en trois doses de sublimé, à 48 heures d'intervalle.

Un seul cobaye (n° 1) a supporté 6 centigrammes d'atoxyl en deux doses, à 24 heures d'intervalle; il s'agissait d'une femelle pleine; il est possible que l'état de gestation soit pour quelque chose dans cette tolérance exceptionnelle à l'atoxyl. Un cobaye a été intoxiqué par 3 centigrammes et deux autres par 2^{cgr}, 50 d'atoxyl, en deux doses, à 24 heures d'intervalle. La dose de 2^{cgr}, 50 d'atoxyl en deux fois, à 24 heures d'intervalle, est donc bien une dose limite.

Deux cobayes (n°s 11 et 12) ont été intoxiqués par 4 milligrammes de sublimé en deux doses, à 48 heures d'intervalle; ici encore la dose indiquée plus haut est donc une dose limite qui ne met pas entièrement à l'abri des accidents d'intoxication.

Les cobayes que nous avons employés pesaient pour la plupart de 400 à 600 grammes. L'expérience nous a montré que, dans ces conditions, il n'y avait pas lieu de rapporter les doses au kilogramme d'animal et que la résistance était à peu près la même pour les cobayes dont les poids variaient dans les

limites indiquées. Les doses des médicaments ont été diminuées pour les cobayes au-dessous de 400 grammes.

Les solutions ont été employées en injections sous la peau de l'abdomen (atoxyl, biiodure) ou dans les muscles des cuisses (sublimé).

Les injections de sublimé faites sous la peau donnent lieu à des eschares molles qui guérissent lentement; elles sont mieux tolérées dans les muscles des cuisses, mais, là encore, elles occasionnent souvent des accidents : phlegmons, gangrènes, névrites avec perte des doigts des membres postérieurs.

La congestion des reins et l'hématurie ont toujours correspondu, dans nos recherches, à l'intoxication par l'atoxyl, l'hémorragie intestinale à l'intoxication mercurielle.

A. — Cobayes traités par l'atoxyl et le biiodure de mercure.

Cobaye 1. — 27 juillet 1907, inoculé de Surra. P = 580 grammes. — 3 août. Trypan. assez nombreux; atoxyl 3 centigrammes. — 4 août. Les trypan. ont disparu; atoxyl 3 centigrammes. — Les 5 et 6 août, l'examen du sang est négatif. Le 6 août, biiodure de mercure 4 milligramme. P = 570 grammes. — 7 et 8 août. examen du sang négatif; le 7, le cobaye met bas 2 petits qui meurent l'un le 7 et l'autre le 11 août. Le 8 août, on donne encore une dose de biiodure de 4 milligramme. P = 500 grammes. — Du 9 août au 17 octobre, l'examen du sang est toujours négatif. Le cobaye était considéré comme guéri lorsque, le 17 octobre, il est trouvé mort.

A l'autopsie, foyers de pneumonie (hépatisation grise) disséminés dans les deux poumons. La rate ne pèse que 0gr,33. Le foie et les reins ont l'aspect normal.

Il ne paraît pas douteux que ce cobaye qui, depuis 73 jours, n'avait pas montré de trypanosomes, était guéri du Surra quand il a succombé à une pneumonie accidentelle.

Cobaye 2. — 27 juillet 1907, inoculé de Surra. P = 230 grammes. — 7 août. Trypan. nombreux. P = 265 grammes. Atoxyl 8 milligrammes. — 8. Les trypan. ont disparu; atoxyl 8 milligrammes. — 9 et 10 août, examen négatif. — Le 10, le cobaye pèse 275 grammes; il reçoit 0mgr,8 de biiodure de mercure. — 11 et 12, pas de trypan. — Le 12, biiodure de mercure 0mgr,8. — Du 13 au 16, examens du sang négatifs. — 17 août. Trypan. très rares qui se multiplient le 18 et le 19. Un deuxième traitement est institué — 21 août, atoxyl 1mgr,50; 22, atoxyl 1 centigramme. — 23 août, biiodure de mercure 1mgr,50. — Mort le 24 août, à la suite d'une hématurie.

A l'autopsie, les reins sont congestionnés. Les trypanosomes avaient disparu du sang depuis le commencement du deuxième traitement. Le cobaye est mort intoxiqué.

Cobaye 3. — 27 juillet 1907, inoculé de Surra. P = 390 grammes. — 7 août. Trypan. assez nombreux. P = 440 grammes. Atoxyl 1 centigramme. —

Les trypan. ont disparu. Atoxyl 1 centigramme. — Du 9 au 12, examen du sang négatifs. — Les 10 et 12, on donne 1 milligramme de biiodure de mercure. P = 490 grammes. — Du 13 au 16, l'examen du sang est négatif. — 17 août, rechute. Un deuxième traitement est institué. — 21 août, 1^{er}gr,50 d'atoxyl; 22, 1 centigramme. — 23, 25 et 27, 1^{er}gr,5 de biiodure de mercure. — Du 22 août au 1^{er} septembre, l'examen du sang est négatif. Le 23 août, le cobaye pèse 525 grammes. 2 septembre, rechute, trypanosomes rares. Le cobaye est soumis à un autre traitement.

Cobaye 4. — 9 août 1907, inoculé de Surra. P = 435 grammes. — 16 août, trypanosomes nombreux. Atoxyl, 1 centigramme. — 17, les trypanosomes n'ont pas disparu complètement. Atoxyl 1^{er}gr,50. — Les 18 et 20 août, on donne 1^{er}gr,50 de biiodure de mercure. Du 18 au 24 août, l'examen du sang est négatif. Le 24, le cobaye pèse 525 grammes. — 25 août, rechute, trypanosomes très rares : on institue un deuxième traitement. Les 25 et 26, on donne 1^{er}gr,50 d'atoxyl; les 27, 29 et 31, 1^{er}gr,50 de biiodure de mercure. — Du 26 août au 3 septembre, l'examen du sang est négatif. Le 1^{er} septembre le cobaye pèse 550 grammes. — 4 septembre, rechute, trypan. très rares qui deviennent nombreux les 6, 7 et 8 septembre. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 5. — 9 août 1907, inoculé de Surra. P = 455 grammes. — 17. Trypan. non rares; atoxyl 1 centigramme. — 18. Les trypan. ont disparu; atoxyl 1^{er}gr,50. — 19, 21 et 23, biiodure de mercure 1^{er}gr,50. — Le 19, le cobaye pèse 480 grammes, le 23, 437 grammes et le 27, 460 grammes. Tous les examens du sang faits du 18 au 27 août sont négatifs. — 28 août, rechute, trypan. non rares. On fait un second traitement. 28, atoxyl 1^{er}gr,50; 29, 1 centigramme; 30 août, 1^{er} et 3 septembre, biiodure de mercure 1^{er}gr,50. Les 1^{er} et 3 septembre, biiodure de mercure 1^{er}gr,50. Le 1^{er} septembre, le cobaye pèse 405 gramme est le 13 octobre 450 grammes. Tous les examens du sang faits du 29 août 1907 au 15 février 1908, sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 21 novembre le cobaye pèse 547 grammes.

Cobaye 6. — P = 460 grammes. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 18 août, trypan. non rares. P = 500 grammes. Atoxyl 1^{er}gr,50. — 19. Les trypan. ont disparu; atoxyl 1^{er}gr,50. — Les 20, 22 et 24 août, biiodure de mercure 1^{er}gr,50. — Le 28 août, les trypan. n'ont pas reparu, on fait cependant un second traitement. Le 28, atoxyl 1^{er}gr,50; le 29, 1 centigramme. Les 31 août, 2 et 5 septembre, biiodure de mercure 1^{er}gr,50. — Tous les examens du sang faits jusqu'au 2 octobre, sont négatifs. Le 6 septembre, le cobaye pèse 380 grammes. — 18 septembre, gangrène de plusieurs doigts des pattes postérieures. Amaigrissement marqué. — Le 26, le cobaye ne pèse plus que 300 grammes.

Le cobaye est trouvé mort le 4 octobre. La rate est petite, normale. Le foie et les reins ont l'aspect normal. La muqueuse stomacale n'est pas altérée, mais les fibres musculaires, blanchâtres, paraissent atteintes de dégénérescence. Le myocarde est blanchâtre et, sur des coupes histologiques, il est facile de constater l'existence d'une myocardite diffuse interstitielle. Les poumons sont à l'état normal.

Il ne paraît pas douteux que l'animal ait succombé à une intoxication mercurielle.

Cobaye 7. — P = 405 grammes. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 26 août, trypan. non rares; atoxyl 1^{er}gr,50. — 27, les trypan. ont disparu. P = 430 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 28 et 30 août et 1^{er} septembre, biiodure de mercure 1^{er}gr,50. — 3 septembre, les trypan. n'ont pas reparu, néanmoins on fait un second traitement : atoxyl 1^{er}gr,50. — 5 septembre, atoxyl 1 centigramme. — 7, 9 et 11 septembre, biiodure de mercure 1^{er}gr,50. Le 11 septembre, le cobaye pèse 450 grammes. — Malgré le double traitement, une rechute se produit le 23 septembre. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

B. Cobayes traités par l'atoxyl et le sublimé.

Cobaye 8. — P = 490. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. — 8 août trypanosomes non rares; atoxyl 1 centigramme. — 9. Les trypanosomes ont disparu; atoxyl 1 centigramme. — Les 11 et 13 août, sublimé 2 milligrammes. — Du 10 au 16 août, les examens du sang sont négatifs. Le 16, on note une gangrène qui s'étend à plusieurs doigts des pattes postérieures. — 17 août, rechute. — 18 et 19, trypan. nombreux. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 9. — P = 475 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. — 8. Trypan. non rares. P = 510 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 9. Les trypan. ont disparu. Atoxyl 1 centigramme. — Les 11 et 13 août, 2 milligrammes de sublimé. — Du 10 au 17 août, l'examen du sang est négatif. Le 17, le cobaye pèse 515 grammes. — 18 août, rechute, trypan. nombreux. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 10. — P = 490. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 21 août. Trypan. nombreux. Atoxyl 1^{er}gr,50. — 22. Les trypan. ont disparu. P = 485 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — Les 23 et 25, le cobaye reçoit 2 milligrammes de sublimé. — Du 23 au 30 août, l'examen du sang est négatif. — 31 août, rechute, trypan. rares; atoxyl 1^{er}gr,50. — 1^{er} septembre, les trypanosomes ont disparu. — 2, atoxyl 1 centigramme. — Les 5 et 8 septembre, le cobaye reçoit 2 milligrammes de sublimé. Du 2 septembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au commencement d'octobre on note encore une agglutination légère des hématies. Perte par gangrène des doigts des membres postérieurs. Le 1^{er} octobre, le cobaye pèse 385 grammes. Du 11 au 21 novembre l'agglutination des hématies est légère ou nulle. Le 16 novembre, le cobaye pèse 427 grammes.

Cobaye 11. — P = 390 grammes. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 25 août, trypanosomes nombreux. Atoxyl 1^{er}gr,50. — 26. Les trypanosomes ont disparu. P = 430 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 27 et 29, sublimé 2 milligrammes. — 30 août. L'animal est malade, il a beaucoup maigri, il ne pèse plus que 335 grammes. — 31. P = 305 grammes. Mort d'hémorragie intestinale par intoxication mercurielle. Les trypanosomes n'avaient pas reparu.

Cobaye 12. — P = 455 grammes. Inoculé de Surra le 9 août 1907. —

20 août, trypanosomes non rares. Atoxyl 1^{er}, 50. — 21. Les trypanosomes ont disparu. Atoxyl 1 centigramme. — Les 22 et 24 août, le cobaye reçoit 2 milligrammes de sublimé. — L'animal maigrit rapidement à la suite de ces injections; le 22, il pèse 470 grammes et le 23 il ne pèse plus que 360 grammes. Le 23, il meurt d'hémorragie intestinale, par intoxication mercurielle. Les trypanosomes n'avaient pas reparu.

C. Cobayes témoins, traités par l'atoxyl seul.

Sur 12 cobayes témoins, pesant de 400 à 600 grammes, plusieurs sont morts, rapidement intoxiqués, après avoir reçu 6 centigrammes, 4 centigrammes, 3 centigrammes et même 2^{egr}, 50 d'atoxyl en deux doses à 24 heures d'intervalle. La plupart de ces cobayes ont présenté de l'hématurie et, à l'autopsie, on a noté une congestion rénale. Dans les autres cas, il y a eu des rechutes. Nous donnerons seulement les 3 observations suivantes.

Cobaye 13. — P = 480. Inoculé de Surra le 9 août 1907. — 22 août, trypanosomes nombreux. P = 545 grammes. Atoxyl 1^{er}, 50. — 23, les trypanosomes ont disparu; atoxyl 1 centigramme. — 24. P = 520 grammes. — 28, rechute, trypanosomes très rares; atoxyl 1^{er}, 50. — 29, les trypanosomes ont disparu; atoxyl 1 centigramme. — 8 septembre, 2^e rechute, trypanosomes non rares. — 10, trypan. non rares. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 14. — P = 385 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. — 12 août, trypanosomes nombreux. P = 450 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 13, les trypanosomes ont disparu; atoxyl 1 centigramme. — 20 août, rechute, trypanosomes rares. — 21, trypanosomes nombreux; atoxyl 1^{er}, 50. — 22, les trypanosomes ont disparu. P = 505 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — 28 août, 2^e rechute, trypanosomes rares. — 1^{er} septembre, trypanosomes non rares. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 15. — P = 490. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. — 11 août, trypanosomes nombreux; P = 525 grammes; atoxyl 1 centigramme. — 12, les trypanosomes ont disparu; atoxyl 1 centigramme. — 20 août, rechute, trypanosomes rares. — 21, trypanosomes nombreux; atoxyl 1^{er}, 50. — 22, les trypanosomes ont disparu. P = 540 grammes. Atoxyl 1 centigramme. — Tous les examens du sang faits du 22 août au 16 septembre sont négatifs. — 17 septembre, 2^e rechute, trypanosomes très rares. — 19, trypanosomes non rares. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

En résumé, sur 7 cobayes traités par l'atoxyl et le biiodure de mercure, 2 ont guéri (cob. 1 et cob. 5), 2 ont eu deux rechutes après lesquelles le mode de traitement a été changé, 3 sont morts intoxiqués pendant ou après le deuxième traite-

tement; chaque traitement comportait deux doses d'atoxyl à 24 heures d'intervalle et deux à trois doses de biiodure de mercure à 48 heures d'intervalle.

Sur 5 cobayes traités par l'atoxyl et le sublimé, un seul a guéri, 2 ont eu des rechutes après lesquelles le mode de traitement a été changé, 2 sont morts intoxiqués à la suite du 1^{er} traitement. Chaque traitement comportait : 2 injections d'atoxyl à 24 heures d'intervalle et 2 injections de sublimé à 48 heures d'intervalle.

Au total, sur 12 cobayes soumis au traitement mixte par l'atoxyl et un sel de mercure, il n'y a eu que 3 guérisons.

Ce résultat est beaucoup moins satisfaisant que celui qui a été obtenu par Moore, Nierenstein et Todd chez les rats, mais il est supérieur à celui qu'on obtient avec l'atoxyl seul. Aucun des cobayes témoins traités par l'atoxyl seul n'a guéri.

Les doses efficaces d'atoxyl et de mercure sont voisines des doses toxiques, ce qui constitue un grave inconvénient; d'autre part, les injections de biiodure de mercure et surtout celles de sublimé exposent à des accidents locaux, mais on pourrait se mettre à l'abri de ces derniers accidents en donnant les sels de mercure à l'intérieur.

Si imparfaits que soient les résultats obtenus dans nos expériences, nous pensons comme Nierenstein qu'il y aura lieu d'expérimenter dans la trypanosomiasse humaine la médication mixte par l'atoxyl et les sels de mercure.

II

VALEUR CURATIVE ET PRÉVENTIVE DE L'ACIDE ARSÉNIEUX

Nous avons employé le plus souvent une solution d'acide arsénieux à 1 0/00 préparée suivant les indications de Loeffler et Rühs. Un gramme d'acide arsénieux pur, vitreux, est dissous à chaud dans 10 c. c. de solution normale de soude. On neutralise l'alcalinité avec 10 c. c. d'une solution normale d'acide chlorhydrique et on complète à 1000 c. c. avec de l'eau distillée. La solution renferme 1 gramme d'acide arsénieux libre et 0^{gr},585 de chlorure de sodium; l'acidité évaluée au moyen de la phénol-phtaléine est la même que celle de la solution d'acide arsénieux à 1 0/00, connue sous le nom de liqueur de Boudin.

La présence d'une petite quantité de chlorure de sodium ne paraît pas justifier la dénomination de *Neue Lösung* que Loeffler et Rühs ont donnée à cette solution. Quelques expériences comparatives faites avec la solution de Loeffler et Rühs et avec la liqueur de Boudin nous ont montré que l'action des deux solutions sur les trypanosomes était la même.

Loeffler et Rühs ont employé la solution d'acide arsénieux tantôt en injections intrapéritonéales, tantôt en la faisant ingérer, ce qui est facile pour les cobayes. On place entre les mâchoires une planchette trouée; par le trou, on introduit, jusque dans l'estomac, une petite sonde en gomme; on injecte dans la sonde la quantité voulue de la solution; enfin, on pousse un peu d'eau ou d'air de façon à ce que une partie de la solution ne reste pas dans la sonde.

Par la voie intra péritonéale, d'après Loeffler et Rühs, la dose toxique est de 8 à 10 milligrammes, la dose curative de 4^{mg},50 par kilogramme de cobaye. Par ingestion, la dose toxique est de 12 à 18 milligrammes, la dose efficace de 6 milligrammes par kilogramme. Il résulte de nos observations que les doses de 4 à 5 milligrammes par kilogramme, en injections intrapéritonéales, et de 8 milligrammes par kilogramme, par ingestion, sont souvent mortelles.

En même temps que nous soumettions des cobayes à cinq traitements successifs, à cinq jours d'intervalle, suivant la formule de Loeffler et Rühs, nous essayions de faire prendre à d'autres cobayes les doses d'acide arsénieux à 24 ou 48 heures d'intervalle.

L'expérience nous a montré qu'il y avait intérêt à commencer par de faibles doses; les cobayes acquièrent vite une accoutumance au médicament qui permet d'augmenter les doses.

Des essais de traitement faits sur des chiens n'ont pas donné de résultats favorables; les chiens vomissent la solution d'acide arsénieux qui est introduite dans l'estomac avec une sonde œsophagienne, et les injections intraveineuses donnent lieu facilement à des accidents d'intoxication.

A. — *Cobayes traités par ingestion d'acide arsénieux tous les 5 jours.*

Sur 7 cobayes traités par ingestion d'acide arsénieux tous

les 5 jours, d'après la méthode préconisée par Lœffler et Rühs, 4 sont morts intoxiqués au cours du traitement; nous croyons inutile de donner leurs observations; nous nous bornerons à donner celles des trois autres cobayes.

Cobaye 1. — Inoculé de Surra le 8 août 1907. — 7 sept. Trypan. nombreux. P = 575 grammes. Acide arsénieux 5 milligrammes (en ingestion; solut. de Lœffler). — 8 sept. Les trypanosomes ont disparu. — 12. P = 545 grammes. Ac. arsénieux 4mgr,5. — 17. P = 535 grammes. Ac. arsénieux 4mgr,5. — 22. P = 515 grammes. Ac. arsénieux 4mgr,5. — 27. P = 540 grammes. Ac. arsénieux 4mgr,5. — Du 8 septembre au 24 octobre, tous les examens du sang sont négatifs. — 25 octobre (28 jours après la dernière prise d'acide arsénieux), rechute, trypanosomes très rares. — 27. Trypan. non rares. L'animal est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 2. — 17 juillet 1907, inoculé de Surra (forme bénigne, Mbori). — 10 sept. Trypan. non rares. P = 550 grammes. Ac. arsénieux 5 milligrammes (ingestion, sol. de Lœffler). — 11. Les trypan. ont disparu. — 15. P = 495 grammes. Ac. arsénieux 3mgr,5. — 20. P = 505 grammes. Ac. arsénieux 3mgr,5. — 25. P = 525 grammes. Ac. arsénieux 3mgr,5. — 30. Ac. arsénieux 3mgr,5. — Du 11 septembre au 29 octobre, tous les examens du sang sont négatifs, mais l'agglutination globulaire persiste. — 30 octobre (30 jours après la dernière prise d'ac. arsénieux), rechute, trypan. très rares. Le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

Cobaye 3. — P = 320 grammes. Inoculé le 8 septembre 1907 avec le trypan. du Togo (virus fort de Martini). — 21 sept. Trypan. très nombreux. P = 325 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (ingestion). — 23. Les trypan. ont disparu. — 26. P = 335 grammes. Ac. arsénieux 2 milligr. — 1^{er} oct. P = 375 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes. — 2. P = 375 grammes. Rechute, trypan. très rares. — L'animal est soumis à un traitement plus intensif par l'acide arsénieux, il meurt de perforation de l'estomac le 18 octobre.

B. — *Cobayes traités par ingestion d'acide arsénieux tous les 2 à 3 jours ou tous les jours.*

Trois cobayes ont été traités par ingestion d'acide arsénieux à doses croissantes tous les 2 à 3 jours; nous avons remarqué que les doses fortes données d'emblée étaient mal supportées, tandis que chez les animaux ayant reçu déjà quelques doses faibles ou moyennes, on observait une tolérance bien marquée pour l'acide arsénieux.

Cobaye 4. — Infecté de Surra, traité d'abord par l'atoxyl et le biiodure de mercure, a une rechute le 23 septembre 1907. — 5 octobre, trypan. nombreux. P = 555 grammes. Ac. arsénieux 3 milligrammes (ingestion). —

Le 7, les trypan. ont disparu. P = 535 grammes. Ac. arsénieux 3^{mgr},5. — 9. P = 555 grammes. Ac. arsénieux 4^{mgr},5. — 11. Acide arsénieux 5 milligrammes. — 13. P = 520 grammes. Ac. arsénieux 6 milligrammes. Du 7 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs et les hématies ne s'agglutinent plus. Le 10 novembre, le cobaye pèse 565 grammes et le 27 novembre, 610 grammes.

Cobaye 5. — Inoculé de Surra le 27 septembre 1907. — 19 octobre. Trypan. nombreux. P = 630 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (ingestion). — 21. Trypan. très rares. P = 655 grammes. Ac. arsénieux 3^{mgr},5. — 22. Les trypanosomes ont disparu. — 23. P = 665 grammes. Ac. arsénieux 4 milligrammes. — 25. P = 665 grammes. Ac. arsénieux 4^{mgr},5. — 27. Ac. arsénieux 5 milligrammes. — 29. P = 645 grammes. Ac. arsénieux 6^{mgr},5. — 30. P = 620. — Du 22 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs et les hématies ne s'agglutinent plus. — Le 18 novembre, le cobaye pèse 735 grammes et le 27 novembre, 780 grammes.

Cobaye 6. — Inoculé de Surra, le 7 septembre 1907, le cobaye s'est infecté et il a été soumis à un premier traitement arsénical. Rechute le 17 octobre. — 18 octobre. Trypan. nombreux. P = 420 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (ingestion). — Le 19, les trypan. ont disparu. — 21. P = 465 gr. Ac. arsénieux 2^{mgr},5. — 23. P = 495 grammes. Ac. arsénieux 3 milligr. — 25. P = 465 grammes. Ac. arsénieux 3^{mgr},5. — 27. P. = 490 grammes. Ac. arsénieux 4^{mgr},5. — Du 19 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs et les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 575 grammes, et le 29 novembre, 655 grammes.

Sur 4 cobayes traités par ingestion d'acide arsénieux tous les jours, 1 est mort intoxiqué après 4 ingestions, 2 ont eu des rechutes après 5 ingestions; les trypanosomes ont reparu 11 jours et 26 jours après la dernière ingestion; le dernier cobaye, qui n'avait reçu que 4 doses parce qu'il avait présenté des contractures le 4^e jour, a rechuté 25 jours après la dernière ingestion.

C. — *Cobayes traités par les injections intrapéritonéales d'acide arsénieux.*

Cobaye 7. — Inoculé de Surra le 26 juillet 1907. — 31 août. Trypan. nombreux. P = 675 grammes. Ac. arsénieux 3 milligrammes (injection intrapéritonéale). — 1^{er} sept. Les trypan. ont disparu. — 3. P = 545 gr. — 5. P = 495. Le cobaye a donc beaucoup maigri à la suite d'une seule injection. — 8. P = 530 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (injection intrapéritonéale). — 9. P = 485. Du 1^{er} au 9 septembre, tous les examens du sang sont négatifs. Le cobaye est trouvé mort le 10 septembre. A l'autopsie : léger épanchement séreux dans le péritoine. Congestion du foie. Rate et poumons normaux.

Cobaye 8. — Inoculé de Surra le 1^{er} août 1907. — 2 sept. Trypan. nom-

breux. P = 390 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (injection intrapéritonéale). — Le 3 sept., les trypan, ont disparu. — 4 sept. P = 310 gr. — Le 6 septembre, le cobaye est trouvé mort. Du 3 au 6, les examens du sang ont été négatifs. P = 290 grammes. A l'autopsie : pas de lésions péritonéales ; rate de volume normal. Les poumons sont congestionnés.

Cobaye 9. — Inoculé le 23 août 1907 avec le virus fort du Togo. — 3 sept. Trypan, nombreux. P = 435 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (en injection intrapéritonéale). — Le 5, les trypan, ont disparu. P = 445 grammes. — 6. P = 375 grammes. — 8. P = 405 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (injection intrapéritonéale). — 12. P = 355 grammes. — 13. P = 360 grammes. Ac. arsénieux 2 milligrammes (injection intrapéritonéale). — 18. P = 295 grammes. L'animal ayant beaucoup maigri, le traitement est suspendu. — Du 5 au 29 septembre, tous les examens du sang sont négatifs. — 30, rechute (17 jours après la dernière injection) ; le cobaye est soumis à un autre mode de traitement.

D. — *Emploi préventif de l'acide arsénieux.*

Loeffler et Rühs disent avoir constaté l'action préventive de l'acide arsénieux contre le Nagana ; leurs expériences ont été faites sur des cobayes ; ces observateurs vont jusqu'à comparer les effets de l'acide arsénieux contre les trypanosomiasés à ceux de la quinine contre le paludisme.

L'acide arsénieux ou l'arsénite de soude avaient été expérimentés déjà à plusieurs reprises au point de vue de la prévention des trypanosomiasés et les résultats n'avaient pas été favorables.

Bruce a conclu de ses recherches, faites au Zouloulând, que l'acide arsénieux était tout à fait inutile comme prophylactique du Nagana. Des chevaux et un âne saturés d'arsenic ont contracté rapidement le Nagana quand on les a conduits dans des régions à tsétsé. Chez un chien, l'emploi préventif de l'arsenic est resté également sans effet ¹.

L'un de nous a fait, avec M. Mesnil, des expériences sur l'emploi préventif de l'acide arsénieux dans le Nagana qui sont résumées comme il suit : « Nous avons constaté, comme Bruce, que l'arsenic n'avait pour le Nagana aucune vertu préventive. Les animaux traités préventivement par l'arsenic s'infectent aussi facilement et aussi rapidement que les autres et l'évolution de la maladie n'est pas modifiée ². »

1. D. BRUCE, *Rapports sur le Nagana*, 1895-1896.

2. A. LAVERAN et F. MESNIL, *Trypanosomes et Trypanosomiasés*, Paris 1904, p. 175.

Si peu encourageants que fussent les résultats antérieurs, nous avons voulu répéter les expériences de Lœffler et Rühs en nous servant de la solution d'acide arsénieux préconisée par ces observateurs et en l'administrant comme eux, à l'intérieur et aux mêmes doses.

D'après Lœffler et Rühs, il faudrait employer des doses de 6 milligrammes à 10 milligrammes par kilogramme de cobaye, *per os*, pour prévenir l'infection, et le médicament devrait être donné tous les 5 jours. Nous pensons que l'administration répétée du médicament ne s'impose que lorsqu'il y a des infections répétées ou que, du moins, on peut craindre celles-ci. En tous cas, Lœffler et Rühs donnent les observations de deux cobayes qui, après avoir reçu, *per os*, 8 milligrammes à 10 milligrammes d'acide arsénieux par kilogramme, ont été inoculés de Nagana 2 jours après l'ingestion, non répétée, du médicament, et qui ne se sont pas infectés (cobayes 871 et 872).

Nous sommes arrivés à des résultats différents, comme le prouvent les expériences suivantes. Nous avons expérimenté, il est vrai, avec des trypanosomes appartenant à d'autres espèces que le trypanosome du Nagana employé par Lœffler et Rühs; mais, comme il s'agit de trypanosomes moins virulents que *Tr. Brucei*, nous pensons que cette différence ne peut donner que plus de poids aux résultats que nous avons obtenus ¹.

Cobaye 10. — Un cobaye du poids de 430 grammes reçoit le 6 septembre, par voie stomacale (au moyen d'une sonde œsophagienne), 4 c. c. de la solution d'acide arsénieux à 1 0/0, soit 9^{mgr},3 par kilogramme.

Le 7 septembre, le cobaye qui a bien supporté la solution arsénicale est inoculé, sous la peau, avec le trypanosome du Surra.

Les examens du sang du cobaye faits du 12 au 18 septembre sont négatifs.

19 septembre. On trouve dans le sang du cobaye des trypanosomes très rares qui se multiplient les jours suivants.

Le cobaye est alors utilisé pour une expérience de traitement.

Cobaye 11. — Un cobaye du poids de 320 grammes reçoit le 6 septembre, *per os*, 3 c. c. de la solution arsénicale, ce qui représente 9^{mgr},2 d'acide arsénieux par kilogramme.

Le 8 septembre, c'est-à-dire 48 heures après l'ingestion d'acide arsénieux, le cobaye est inoculé sous la peau avec un trypanosome du Togo (virus fort de Martini).

1. A. LAVERAN et A. THIROUX, *Acad. des Sciences*, 30 septembre 1907.

Du 10 au 15 septembre, l'examen du sang du cobaye est négatif.

Le 16 septembre, on note, à l'examen du sang, des trypanosomes rares dont le nombre augmente les jours suivants.

Le cobaye est utilisé ensuite pour une expérience de traitement.

L'incubation a été de 12 jours chez le premier cobaye et de 8 jours chez le second ; il est possible que, chez le premier cobaye, l'évolution du parasite ait été retardée un peu par l'acide arsénieux.

Un cobaye du poids de 520 grammes auquel on avait fait ingérer le 6 septembre 5 c. c. de la solution arsénicale, soit 9^{mg},5 d'acide arsénieux par kilog., est mort intoxiqué ; on peut donc dire que les doses données aux cobayes 10 et 11 (9^{mg},3 et 9^{mg},2 par kilog.) sont des doses très fortes, très voisines des doses toxiques. L'inoculation des trypanosomes pathogènes faite 24 heures ou 48 heures après l'ingestion de ces doses très fortes d'acide arsénieux ayant déterminé l'infection des animaux en expérience, on peut, croyons-nous, en conclure que les propriétés préventives de l'acide arsénieux sont nulles ou bien faibles ; trop faibles en tous cas pour être utilisées dans la pratique.

Les observations suivantes prouvent, mieux encore que les précédentes, l'inefficacité de l'emploi préventif de l'acide arsénieux, car les cobayes avaient reçu, par ingestion, 5 doses fortes d'acide arsénieux avant d'être inoculés avec *Tr. dimorphon* et ils se sont infectés. Les cobayes ont été inoculés, l'un 2 jours, l'autre 3 jours après avoir reçu la dernière dose d'acide arsénieux.

Cobaye 12. — P = 405 grammes. Les 27 et 29 septembre, 1^{er}, 3 et 5 octobre 1907, le cobaye reçoit (par ingestion) 2^{mgr},5 d'acide arsénieux, soit 5 doses fortes de ce médicament, correspondant à 6^{mgr},1 par kilogramme d'animal. L'animal supporte très bien ce traitement préventif qu'on peut qualifier d'énergique ; le 5 octobre, il pèse 445 grammes. Le 7 octobre, le cobaye est inoculé avec *Tr. dimorphon*. — 19 octobre (12 jours après l'inoculation), on note l'existence de trypanosomes dans le sang. Le cobaye est utilisé pour une expérience de traitement.

Cobaye 13. — P = 400 grammes. Les 27, 28 et 30 septembre et les 1^{er} et 2 octobre, le cobaye reçoit (par ingestion) 2^{mgr},5 d'acide arsénieux, soit 5 doses fortes en 6 jours. — Le 5 octobre, le cobaye pèse 465 grammes ; il a donc très bien supporté ce traitement préventif énergique. Le cobaye est inoculé le 5 octobre, sous la peau, avec *Tr. dimorphon*. — Les examens du

sang, faits du 10 au 18, sont négatifs. — 19 octobre, (14 jours après l'inoculation) on note l'existence de trypanosomes très rares dans le sang du cobaye. — Du 20 au 28, trypanosomes rares. Le 28 l'animal est trouvé mort ; il a été tué par un autre cobaye.

En résumé, sur 7 cobayes infectés avec *Tr. Evansi* ou avec d'autres trypanosomes, traités par ingestion d'acide arsénieux tous les 5 jours, d'après les règles tracées par Loeffler et Rühs, 4 sont morts intoxiqués et, chez les 3 autres, il y a eu rechute. Dans deux cas, la rechute a été assez tardive ; elle ne s'est produite que 28 et 30 jours après la dernière ingestion d'acide arsénieux.

Il nous semble très probable que si Loeffler et Rühs disent avoir obtenu des résultats beaucoup meilleurs, c'est qu'ils n'ont pas suivi assez longtemps les animaux en expérience. Pour qu'on puisse affirmer qu'un cobaye infecté de Nagana ou de Surra et traité, est guéri, il est nécessaire que les trypanosomes aient disparu depuis 50 à 60 jours, après cessation du traitement. Loeffler et Rühs paraissent avoir rangé, au nombre des cobayes guéris, des animaux du sang desquels les trypanosomes avaient disparu depuis moins longtemps ¹.

Bien que Loeffler et Rühs aient tiré de leurs expériences des conclusions trop favorables à l'emploi exclusif de l'acide arsénieux, leur travail n'en présente pas moins un réel intérêt ; il ressort, en effet, de leurs observations que l'administration de l'acide arsénieux est aussi efficace par la voie digestive que par la voie hypodermique qui, pour beaucoup de préparations arsénicales, présente de graves inconvénients. On verra plus loin que nous avons utilisé avec succès la voie digestive pour l'administration de composés tels que le trisulfure d'arsenic et l'iodure d'arsenic qui, employés par la voie hypodermique, donnent lieu souvent à des accidents locaux.

Nous avons diminué chez quelques cobayes l'intervalle de 5 jours entre les prises d'acide arsénieux, dans l'espoir qu'un traitement plus continu serait plus efficace.

Sur 7 cobayes traités par ingestion à 1, 2 ou 3 jours d'intervalle, un cobaye est mort intoxiqué, 3 cobayes ont eu des rechutes 11, 23 et 26 jours après la dernière ingestion d'acide

¹ Les observations très succinctes, publiées par Loeffler et Rühs à la fin de leur mémoire, ne nous renseignent pas suffisamment à cet égard.

arsénieux, 3 cobayes paraissent guéris (cob. 4, 5, 6). Ce sont les ingestions à doses croissantes, tous les deux jours, (5 ingestions) qui ont donné les meilleurs résultats (3 cobayes guéris sur 3 traités par cette méthode). Ces succès montrent qu'il y a avantage à maintenir l'organisme pendant une dizaine de jours sous l'influence de l'acide arsénieux et à rapprocher les doses du médicament comme nous l'avons déjà dit ¹. Les ingestions faites tous les jours sont trop toxiques ; elles ont donné des résultats très peu satisfaisants.

Sur 3 cobayes traités par les injections intrapéritonéales, 2 sont morts intoxiqués, le troisième a eu une rechute 17 jours après la dernière injection.

Les expériences citées plus haut montrent que l'acide arsénieux n'exerce pas sur les trypanosomiasés l'action préventive qui lui a été attribuée par Loeffler et Rühs et qu'il ne doit pas être conseillé pour cet objet.

La médication atoxylique donnant des résultats satisfaisants, mais presque toujours incomplets dans le traitement des trypanosomiasés, et l'emploi de cette médication présentant des dangers quand on élève les doses (accidents oculaires), nous avons pensé qu'on pourrait associer à l'atoxyl un autre composé arsénical, également actif sur les trypanosomes, mais n'ayant pas, pour l'homme ou pour l'animal, les mêmes effets toxiques. Grâce à cette association, on pourrait, pensions-nous, agir plus énergiquement sur les trypanosomes sans exposer l'homme ou l'animal en traitement à des accidents d'intoxication.

Il n'est pas douteux que l'atoxyl a, sur l'organisme de l'homme ou des animaux, des effets bien différents de ceux que produit l'acide arsénieux par exemple.

L'acide arsénieux donné à forte dose détermine des accidents du côté des voies digestives : vomissements, coliques, diarrhée ; quand la mort n'est pas trop rapide, on observe à l'autopsie de la dégénérescence graisseuse du foie.

L'intoxication par l'atoxyl est caractérisée surtout par des symptômes nerveux : ataxie, mouvements de manège chez le rat et le cobaye, perte de la vue chez l'homme et par une congestion rénale qui se traduit souvent, chez le cobaye, par des

1. *Académie des Sciences*, 30 septembre 1907.

hématuries. Les accidents gastro-intestinaux ont rarement une intensité comparable à celle qui caractérise l'empoisonnement par l'acide arsénieux; la dégénérescence graisseuse du foie est d'ordinaire peu marquée.

On pouvait donc espérer de trouver une préparation arsénicale dont l'action trypanolytique s'ajouterait à celle de l'atoxyl, sans que les effets toxiques des deux médicaments sur l'organisme s'additionnassent exactement.

Déjà Loeffler et Rühs avaient expérimenté une solution d'arsénite de soude et d'atoxyl (parties égales), mais cette préparation leur avait paru trop toxique et ils y avaient rapidement renoncé.

Nous avons expérimenté les associations médicamenteuses qui suivent : atoxyl et trisulfure d'arsenic, atoxyl et iodure d'arsenic, atoxyl et acide arsénieux.

III

TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES PAR L'ATOXYL ET LE TRISULFURE D'ARSENIC

Nous avons employé le trisulfure d'arsenic colloïdal en injections hypodermiques ou à l'intérieur et les pilules de trisulfure d'arsenic.

M. Malfitano a mis obligeamment à notre disposition du trisulfure d'arsenic colloïdal préparé en faisant agir de l'hydrogène sulfuré sur une solution d'acide arsénieux; la solution contenait 9^{mgr},2 de trisulfure d'arsenic par centimètre cube. Cette préparation étant très irritante et déterminant des eschares sèches, étendues, quand on l'injectait sous la peau ou dans les muscles, nous avons été conduits à l'étendre d'eau, d'abord au cinquième, puis au dixième. Nous donnerons le nom de solution A à la solution diluée au cinquième. Cette solution injectée sous la peau ou dans les muscles des cuisses, chez des cobayes ou chez des rats, provoque souvent encore des accidents locaux (eschares, abcès); la solution diluée au dixième est au contraire presque toujours bien supportée en injections dans les muscles.

La dose de trisulfure que peut supporter un cobaye, en injection sous-cutanée, est de 2 c. c. 5 de la solution A, soit 4^{mgr},5 de trisulfure d'arsenic. Des doses supérieures sont toxiques, elles déterminent un amaigrissement rapide suivi de

mort et, à l'autopsie, on constate une dégénérescence graisseuse du foie.

Des rats de 150 à 200 grammes ont supporté des doses de 1 c. c. 5 à 2 c. c. de la solution A.

Par ingestion, on peut donner d'emblée aux cobayes des doses de trisulfure d'arsenic colloïdal trois fois plus fortes qu'en injections hypodermiques, soit 7 c. c. 5 de la solution A, représentant 13^{mgr},5 de trisulfure d'arsenic et l'on peut augmenter la dose jusqu'à 10 et 12 c. c. 5 de la solution A, représentant 18 et 22 c. c. 5 de trisulfure d'arsenic. Le trisulfure colloïdal non dilué a pu être donné sans inconvénient à l'intérieur; un cobaye a pris ainsi, par ingestion, sans qu'il ait présenté de symptômes morbides, des doses de 18 mgr. de trisulfure à 2 jours d'intervalle.

L'orpiment a été employé à l'intérieur sous forme de pilules ayant la composition suivante :

Orpiment précipité.....	0 gr. 225
Gomme arabique pulvérisée.....	} Q. S.
Poudre de réglisse.....	
Eau.....	
Pour 50 pilules de 4 ^{mgr} ,5 chaque.	

Il est facile de faire prendre les pilules aux cobayes; à l'aide d'une pince recourbée dont les mors sont remplacés par des cupules, on introduit les pilules à la base de la langue; elles sont dégluties; l'animal les mâche quelquefois, il est très rare qu'il les rejette; pour être en mesure de remédier à cet accident, il suffit de mettre le cobaye en observation pendant quelques minutes après l'ingestion. On peut aussi introduire un peu d'eau dans la bouche du cobaye après avoir donné la dernière pilule; on provoque ainsi des mouvements de déglutition. La gomme arabique qui fond toujours dans le tube digestif est préférable aux extraits qui se résinifient et peuvent devenir insolubles en vieillissant. 2 pilules suffisent pour faire disparaître les trypanosomes du sang des cobayes infectés. On peut en donner 3 d'emblée, mais nous pensons que, pour le trisulfure d'arsenic, comme pour l'acide arsénieux, il vaut mieux commencer par des doses qui sont toujours bien supportées et qui ne provoquent pas une diminution de poids. Dans les cas où le poids

s'abaisse sensiblement, on est d'ailleurs amené à diminuer les doses. Nous pensons qu'on doit donner d'abord, à des cobayes de 400 à 600 grammes, 2 pilules, soit 9 mgr. d'orpiment; on peut ensuite augmenter la dose et aller jusqu'à 4 pilules, soit 18 mgr. d'orpiment.

Le traitement mixte par l'atoxyl et le trisulfure d'arsenic a été fait de trois façons différentes : 1^o injections simultanées d'atoxyl et de trisulfure d'arsenic colloïdal; 2^o injections sous-cutanées d'atoxyl alternant avec des injections sous-cutanées ou intra-musculaires de trisulfure d'arsenic colloïdal; 3^o injections sous-cutanées d'atoxyl alternant avec les ingestions de pilules d'orpiment.

Les injections d'atoxyl et les ingestions d'orpiment (5 de chaque espèce) ont été faites en général à 48 heures d'intervalle. L'intervalle a été un peu augmenté quand on observait une forte baisse de poids.

A. Animaux traités par le trisulfure d'arsenic colloïdal seul, en injections hypodermiques.

Sur 6 cobayes traités par le trisulfure d'arsenic colloïdal seul, en injections hypodermiques, 2 sont morts rapidement intoxiqués par une ou deux doses de 2 c. c. 5 de trisulfure d'arsenic; un cobaye a eu une rechute à la suite de laquelle il a été soumis au traitement mixte; enfin 3 cobayes ont guéri; nous donnerons seulement les observations de ces derniers.

Cobaye 1. — P = 560 grammes. Le 16 août 1907, le cobaye est inoculé de Surra. — 26 août, trypan. non rares, P = 530 grammes. Injection sous-cutanée de 2 c. c. 5 de la solution A. — Le 27 août, les trypanosomes ont disparu et jusqu'au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Le 4 septembre, le cobaye pèse 545 grammes et, le 18 novembre, 600 grammes. Au mois de novembre, on n'observe plus l'agglutination des hématies. Le 14 novembre, le cobaye met bas 3 petits qui s'élèvent bien. — Le 7 janvier 1908, le cobaye pèse 630 grammes.

Cobaye 2. — P = 630 grammes; inoculé de Surra le 16 août 1907. — 22 août, trypan. très nombreux. Injection sous-cutanée de 2 c. c. 5 de la solution A. — 23 août, les trypanosomes ont disparu. — Du 23 août 1907, au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. L'animal maigrit beaucoup à la fin du mois d'août. Le 29 août, il pèse 530 grammes; malgré l'amaigrissement, on fait une deuxième injection de 2 c. c. 5 de la solution A. — Les injections qui ont été faites sous la peau de l'abdomen

donnent lieu à des eschares qui guérissent lentement. — 15 septembre. Le cobaye a encore maigri, il ne pèse plus que 350 grammes, mais le poids remonte rapidement à partir de cette date. Le 20 septembre, le cobaye pèse 390 grammes; le 26, 435 grammes; le 14 octobre, 490 grammes; le 2 novembre, 550 grammes; le 27 novembre, 605 grammes; le 13 décembre, 670 grammes; le 23 décembre, 680 grammes, et le 4 janvier 1908, 665 grammes.

Cobaye 3. — P = 620 grammes. Inoculé de Surra le 16 août 1907. — 26 août, trypan. non rares. Injection sous-cutanée de 2 c. c. 5 de la solution A. — 27, les trypan. ont disparu. — 2 septembre. Les trypanosomes n'ont pas reparu. On fait une nouvelle injection de 2 c. c. 5 de la solution A. — Le cobaye maigrit. Le 4 septembre, il pèse 480 grammes; le 14, 500 grammes; le 27, 415 grammes; le 7 octobre, le poids est remonté à 510 grammes. — Du 3 septembre au 6 novembre, tous les examens du sang sont négatifs, l'animal peut être considéré comme guéri de la trypanosomiase quand il est trouvé mort le 7 novembre.

Autopsie. La rate, très petite, ne pèse que 0gr, 35 ce qui montre bien que l'animal n'était plus sous l'influence de la trypanosomiase. La mort est due à une épiploïte dont le point de départ est une myosite consécutive aux injections de trisulfure colloïdal faites dans l'épaisseur de la paroi abdominale. Les reins sont un peu congestionnés. Le foie est normal, ainsi que le cœur et les poumons. — On peut conclure de cette autopsie que les injections de trisulfure colloïdal ne doivent pas être faites sous la peau de l'abdomen. Les lieux d'élection nous paraissent être les masses musculaires des régions fessières.

Trois rats infectés de Surra, traités par les injections sous-cutanées de trisulfure d'arsenic colloïdal ont eu des rechutes,

B. Cobayes traités par le trisulfure d'arsenic colloïdal en ingestion.

4 cobayes ont été traités par ce procédé; ils ont reçu de 5 à 10 c. c. 5 de la solution A, ou 2 c. c. à 2 c. c. 5 de la solution non étendue correspondant à 10 et à 12 c. c. 5 de la solution A. Chez 3 cobayes, il y a eu rechute 22 jours et 23 jours (dans 2 cas) après l'administration de la dernière dose du médicament; le quatrième cobaye a eu également une rechute, mais il a guéri après un deuxième traitement plus énergique que le premier. Nous donnerons seulement l'observation de ce dernier cobaye.

Cobaye 4. — P = 480. Inoculé de Surra le 9 août 1907. Le cobaye est traité d'abord par l'atoxyl seul. — 7 septembre, rechute. — 10. Trypan. non rares, P = 535 grammes. Solution A, 7 c. c. 5 (en ingestion). — 11, les trypanosomes ont disparu. — 15, solution A, 5 c. c. — 20. P = 530 grammes. Solution A, 5 c. c. — 25. P = 610 grammes. Solution A, 5 c. c. — 30, P =

605 grammes. Solution A, 5 c. c. — Du 11 septembre, au 7 octobre, tous les examens du sang sont négatifs. — 8 octobre, rechute, trypan. rares. Le cobaye est soumis à un traitement plus énergique. Les 9, 11, 13, et 15, il reçoit, par ingestion, 2 c. c. de la solution de trisulfure colloïdal concentrée, correspondant à 10 c. c. de la solution A, et le 17, 2 c. c. 5 de la même solution, correspondant à 12 c. c. 5 de la solution A. — Du 10 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. A la fin du mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 555 grammes; le 27 novembre, 665 grammes; le 10 décembre, 680 grammes; le 24 décembre, 785 grammes et le 6 janvier 1908 850 grammes.

C. Cobayes traités par le trisulfure d'arsenic en ingestion, sous forme pilulaire.

Sur 3 cobayes traités, 1 cobaye a eu une rechute 23 jours après la dernière ingestion d'orpiment, et a été soumis ensuite à un traitement mixte par l'atoxyl et l'iodure d'arsenic; les deux autres cobayes ont guéri; voici leurs observations résumées.

Cobaye 5. — P = 650 grammes. Inoculé de Surra, dans le péritoine, le 14 septembre 1907. — 18. Trypan. nombreux. P = 740 grammes; orpiment, 13mgr, 5, en 3 pilules. — 19, les trypan. ont disparu. — 23. P = 680 grammes; orpiment 4 mgr, 5 (1 pilule). — 28. P = 660 grammes; orpiment, 9 milligrammes, (2 pilules). — 3 octobre. P = 680 grammes; orpiment, 9 milligrammes (2 pilules). — 8. P = 740 grammes; orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — Du 19 septembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, il n'y a plus agglutination des hématies. Le 18 novembre, le cobaye pèse 740 grammes; le 25 décembre, il pèse 745 grammes; le 19 décembre, le cobaye met bas 4 petits qui s'élèvent bien.

Cobaye 6. — P = 495 grammes; inoculé de Surra, dans le péritoine, le 14 septembre. — 17. Trypan. non rares; orpiment, 13mgr, 5 en 3 pilules, — 20, les trypan ont disparu. — 22. P = 475 grammes; orpiment, 4mgr, 5 (1 pilule). — 27 P = 485 grammes; orpiment, 9 milligrammes. (2 pilules). — 2 octobre. P = 550 grammes; orpiment, 9 milligrammes. — 7. P = 560 grammes; orpiment, 13mgr, 5 (3 pilules). — Du 20 septembre 1907, au 15 février 1908, les trypanosomes ne reparaissent pas dans le sang et au mois de novembre les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 665 grammes; le 29 novembre, 710 grammes, le 10 décembre, 680 grammes; le 25 décembre, 710 grammes; et le 7 janvier 1908, 750 grammes.

En résumé, sur 13 cobayes traités par le trisulfure d'arsenic seul, 2 ont été intoxiqués, 5 ont eu des rechutes, 6 ont guéri.

C'est l'orpiment administré sous forme de pilules qui a donné les meilleurs résultats (2 guérisons sur 3 cobayes traités).

D. Cobayes traités par l'atoxyl et le trisulfure d'arsenic colloïdal en injections simultanées.

Sur 3 cobayes traités par ce procédé, un est mort intoxiqué, un autre a eu une rechute 12 jours après avoir subi le traitement et a été soumis à un autre mode de traitement, le troisième a guéri. Nous donnerons seulement l'observation de ce dernier cobaye.

Cobaye 7. — P = 390gr. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. Le cobaye est traité d'abord par l'atoxyl et le biiodure de mercure. — 2 septembre, rechute. — 3, trypan, nombreux P = 515 grammes, Atoxyl 1 centigramme et sol. A 2 c. c. en injections simultanées. Le trisulfure d'arsenic colloïdal est injecté dans les muscles des cuisses. — 4 septembre, les trypan. ont disparu — 6, P = 445 grammes. — 13, P = 390 grammes. Le poids remonte ensuite; il atteint, le 8 octobre, 515 grammes, le 2 novembre, 540 grammes, et le 16 novembre, 575 grammes. — Du 4 septembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus, à la suite de l'injection de trisulfure d'arsenic, il y a eu gangrène de plusieurs doigts des pattes postérieures. Les plaies sont complètement cicatrisées. — Le 13 décembre, le cobaye pèse 630 grammes; le 23 décembre, le poids est le même. Le 4 janvier 1908, le cobaye pèse 660 grammes.

E. Cobayes et rats traités par des injections alternatives d'atoxyl et de trisulfure d'arsenic colloïdal.

Deux cobayes ont été traités par ce procédé et ils ont guéri tous les deux. Chaque cobaye a reçu deux injections d'atoxyl et deux injections de trisulfure d'arsenic colloïdal.

Cobaye 8. — P = 490 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. Traité d'abord par l'atoxyl et le sublimé et, après une rechute, par le trisulfure d'arsenic colloïdal en injections. — 29 août, rechute, trypan. rares. P = 510 grammes. Solution A, 2 c. c. 5 — 30, les trypan. ont disparu. — 3 septembre, atoxyl, 2^{gr}. — 8, solution A, 2 c. c. 5, gangrène de plusieurs doigts des pattes postérieures. — 13, atoxyl, 2^{gr}, 20. P = 560 grammes. — Du 30 août 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 16 novembre, le cobaye pèse 530 grammes; le 27 novembre, 545 grammes; le 13 décembre, 550 grammes; le 23 décembre, 560 grammes et le 15 janvier 1908, 570 grammes.

Cobaye 9. — P = 545 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. Traité d'abord par l'atoxyl seul. — 17 août, rechute. — 19, trypan. nou

rare, P = 640 grammes. Injection intra-artérielle de 4 c. c. de la solution A. — 20, les trypan. ont disparu. — 28 août, rechute, trypan. rares. P = 665 grammes, solution A, 2 c. c. 5. — 29, les trypan. ont disparu. — 3 septembre, atoxyl, 2 centigrammes. — 8, solution A, 2 c. c. 5. — 13, atoxyl, 2 centigrammes. — 18, gangrène de plusieurs doigts des pattes postérieures, occasionnée par les injections de la solution A. — Du 29 août 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs, à la fin de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 16 novembre, le cobaye pèse 522 grammes; le 27 novembre, 445 grammes; le 13 décembre, 500 grammes; le 23 décembre, 490 grammes et le 4 janvier 1908, 545 grammes.

De 3 rats traités par les injections alternatives d'atoxyl et de trisulfure d'arsenic colloïdal, 2 sont guéris, le troisième a été atteint d'une paraplégie qui n'a pas permis de continuer le traitement. Un quatrième rat qui, traité d'abord par le trisulfure d'arsenic colloïdal seul, avait eu une rechute, a guéri après un traitement mixte.

Nous donnons ci-dessous les observations des 3 rats guéris.

Contrairement à ce que nous avons observé chez les cobayes, nous avons vu des rats infectés de trypanosomes guérir après un traitement par l'atoxyl seul (3 injections, voire même après une seule dose forte); c'est là une mauvaise condition pour étudier l'action des médications mixtes dont l'atoxyl fait partie, aussi avons-nous renoncé rapidement à nous servir des rats pour cette étude.

Rat 1. — P = 222 grammes. Inoculé de Surra le 25 août 1907. Le 30 août, l'examen du sang révèle l'existence de trypanosomes non rares. Injection dans les muscles d'une des cuisses de 2 c. c. de la solution de trisulfure d'arsenic. — 1^{er} septembre, examen du sang négatif. P = 246 grammes. — 2 au 5 septembre, examens négatifs. Le 5 septembre, 2 centigrammes d'atoxyl. — 6 au 10, examens négatifs. — Le 10 septembre, injection de 2 c. c. de la solution de trisulfure d'arsenic. — Du 11 au 15, examens négatifs. — Le 15, atoxyl 2 centigrammes. — Du 16 septembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang du rat sont négatifs. A partir du 23 septembre, l'agglutination des hématies qui avait été bien marquée jusque-là ne se fait plus. Le 17 septembre, le rat pèse 187 grammes, il a donc maigri sous l'influence du traitement. Le 29 octobre, le poids est remonté à 497 grammes; le 2 novembre, à 207 grammes; le 26 décembre, à 210 grammes et le 8 janvier 1908, à 214 grammes.

Rat 2. — P = 103 grammes. Inoculé de Surra le 25 août 1907. — 1^{er} septembre, trypanosomes non rares. P = 114 grammes. Solution de trisulfure d'arsenic, 1 c. c. 25. — Du 2 au 5 septembre, examens négatifs. Le 5, atoxyl, 4 centigramme. — Du 6 au 10, examens du sang négatifs. Le 10, solution

de trisulfure d'arsenic, 1 c. c. 25. — 15 septembre, les trypanosomes n'ont pas reparu, atoxyl, 1^{gr}, 25.

L'agglutination des hématies, bien marquée jusqu'au 14 septembre, est légère du 15 au 30 septembre, elle fait défaut à partir du 1^{er} octobre. Le 3 octobre, le rat pèse 440 grammes; le 25, 427 grammes; le 2 novembre 430 grammes; le 26 décembre, 432 grammes et le 8 janvier 1908, 435 grammes. A la date du 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu dans le sang du rat.

Rat 3. — P = 415 grammes. Inoculé de Surra le 25 août 1907. — 30 août, trypan. non rares. Injection intra-musculaire, dans une cuisse, de 1 c. c. de la solution de trisulfure. — 31 août, les trypan. ont disparu. — Du 1^{er} au 4 septembre, l'examen du sang est négatif. — 5 septembre, trypan. rares. Injection de 1 c. c. 25 de la solution de trisulfure. — 6. Les trypanosomes ont disparu. — 10 septembre, atoxyl, 1 c. c. 25. — 14 septembre, trypan. rares; injection de 1 c. c. 50 de la solution de trisulfure. — 15, les trypan. ont disparu. — 16, atoxyl, 1^{gr}, 50. — Le 19 septembre, le rat pèse 403 grammes; le 3 octobre, 421 grammes et le 25 octobre, 432 grammes. Le 30 octobre, les trypan. n'ont pas reparu. L'agglutination des hématies très nette au début du traitement est notée comme nulle ou très légère dans tous les examens faits à partir du 20 octobre. A la date du 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu dans le sang du rat.

F. Cobayes traités par l'emploi alternatif de l'atoxyl en injections sous-cutanées et de l'orpiment en pilules.

5 cobayes traités par ce procédé ont guéri tous les 5. Voici le résumé des observations.

Cobaye 10. — P = 490 grammes. Inoculé de Surra le 27 juillet 1907. Le cobaye est traité par l'atoxyl seul et, après une rechute, par des injections sous-cutanées de trisulfure d'arsenic colloïdal. — 28 septembre, nouvelle rechute. — 9 octobre, trypan. nombreux, atoxyl, 2 centigrammes. — 10. Les trypan. ont disparu. P = 595 grammes. — 11. Orpiment, 9 milligrammes, 2 pilules). — 13. P = 550 grammes. Atoxyl, 1^{gr}, 5. — 15. P = 535 grammes, orpiment, 13^{mgr}, 5 (3 pilules). — 17. Atoxyl, 1^{gr}, 5. — 19. P = 485 grammes. Le traitement est interrompu à cause de la baisse de poids. — 22. P = 490 grammes. — 23. P = 500 grammes. — 24. P = 530 grammes. Orpiment, 9 milligrammes. — 26. P = 550 grammes. Atoxyl 1^{gr}, 5. — 28. P = 570 grammes. Orpiment, 13^{mgr}, 5. — 30. Atoxyl, 2 centigrammes. — 1^{er} novembre. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). Du 10 octobre 1907, au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. A la fin de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 580 grammes; le 29 novembre, 725 grammes et le 10 décembre, 850 grammes. Dans les derniers jours de décembre, le cobaye met bas deux petits qui s'élèvent bien. — Le 7 janvier, le cobaye pèse 685 grammes.

Cobaye 11. — Inoculé le 30 septembre avec le virus rt de Martin (Togo). — 9 octobre, trypan. non rares. P = 400 grammes. Atoxyl, 2 cneti-

grammes. — 10. Les trypan. ont disparu. — 11. P = 430 grammes. Orpiment, 9 milligrammes (2 pilules). — 13. P = 405 grammes. Atoxyl, 1^{cgr},5. — 15. P = 445 grammes. Orpiment, 13^{mgr},5 (3 pilules). — 17. P = 430 grammes. Atoxyl, 1^{cgr},5. — 19. P = 425 grammes. Orpiment, 13^{mgr},5. — 20. Atoxyl, 1^{cgr},5. — 22. P = 445 grammes. Orpiment, 13^{mgr},5. — 25. P = 445 grammes. Atoxyl, 1^{cgr},5. — 27. P = 455 grammes. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — Du 10 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le cobaye pèse 520 grammes le 18 novembre; 565 grammes le 29 novembre; 650 grammes le 10 décembre et 750 grammes le 25 décembre.

Cobaye 12. — Inoculé de Surra le 4 octobre 1907. — 21 octobre, trypan. nombreux. Atoxyl, 1^{cgr},5 — 23, les trypan. ont disparu. P = 465 grammes. Orpiment, 9 milligrammes (2 pilules). — 25. P = 425 grammes. Atoxyl, 1^{cgr},5. — 27. Orpiment, 13^{mgr},5 (3 pilules). — 29. P = 460 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 31. P = 445 grammes. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — 2 novembre. P = 440 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 4. P = 435 grammes. Orpiment, 22^{mgr},5 (5 pilules). — 6. P = 440 grammes. — 8. P = 390 grammes. L'animal ayant beaucoup maigri. le traitement est suspendu. — 11. P = 420 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. 13. P = 465 grammes. Orpiment, 18 milligrammes. — Du 23 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Au mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 18 novembre, le cobaye pèse 410 grammes; le 27 novembre, 435 grammes; le 13 et le 24 décembre, 500 grammes; le 6 janvier 1908, 515 grammes.

Cobaye 13. — Inoculé de Surra le 9 août 1907. Le cobaye est traité d'abord par l'atoxyl et le biiodure de mercure et, après une rechute, par le trisulfure d'arsenic colloïdal en ingestion. Le 28 octobre, nouvelle rechute, trypan. rares. P = 480 grammes. Atoxyl, 1^{cgr},5. — 29, les trypan. ont disparu. — 30. P = 490 grammes. Orpiment, 13^{mgr},5 (5 pilules). — 1^{er} novembre. P = 510 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 3. P = 500 grammes. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — 5. P = 485 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 7. P = 515 grammes. Orpiment, 22^{mgr},5 (5 pilules). — 8 et 11 novembre. P = 490 grammes. — 12. Atoxyl, 2 centigrammes. — 14. P = 505 grammes. Orpiment, 18 milligrammes. — 16. P = 510 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 18. P = 470 grammes. Orpiment, 18 milligrammes. — Du 29 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Les hématies ne s'agglutinent pas. Le 18 novembre, le cobaye pèse 470 grammes; le 27 novembre, 520 grammes; le 10 décembre, 550 grammes; le 24 décembre, 620 grammes; le 6 janvier 1908, 620 grammes.

Cobaye 14. — Inoculé de Surra le 14 septembre 1907, dans le péritoine, et traité d'abord par le trisulfure d'arsenic colloïdal en ingestion. — 31 octobre, rechute, trypan. rares. — 2 novembre, atoxyl, 2 centigrammes. — 3, les trypan. ont disparu. — P = 650 grammes. Orpiment, 13^{mgr},5 (3 pilules). — 4. P = 655 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 5. P = 660 grammes. Orpiment, 18 milligrammes (4 pilules). — 6. P = 660 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 7. P = 670 grammes. Orpiment, 22^{mgr},5 (5 pilules). — 8. P =

655 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 9. P = 630 grammes. Le traitement est interrompu à cause de l'amaigrissement. — 12. P = 655 grammes. — 13. P = 655 grammes. Orpiment, 18 milligrammes. — 14. P = 660 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 15. Orpiment, 18 milligrammes. — Du 3 novembre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. A la fin du mois de novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. Le 27 novembre, le cobaye pèse 700 grammes; le 10 décembre, 720 grammes; le 24 décembre, 800 grammes et le 6 janvier 1908, 820 grammes.

En résumé, si nous laissons de côté les animaux traités par des injections simultanées d'atoxyl et de trisulfure d'arsenic colloïdal, injections qui sont peu actives quand on réduit notablement les doses, et trop toxiques quand on emploie les doses efficaces de chacun des médicaments, nous voyons que le traitement alternatif par l'atoxyl et le trisulfure d'arsenic a donné, chez les cobayes et chez les rats, d'excellents résultats. Les 7 cobayes traités par ce procédé, ont guéri tous les 7, et il s'agissait souvent de cobayes qui, traités d'abord par d'autres procédés, avaient eu des rechutes, ce qui constitue une condition défavorable pour le traitement des trypanosomiasés.

Nous rappelons qu'aucun des cobayes traités par l'atoxyl seul, n'a guéri; nous avons jugé inutile de répéter, pour chaque médication mixte, ces expériences de traitement avec l'atoxyl seul.

Sur trois rats traités d'emblée par ce procédé, 2 ont guéri. Un rat traité d'abord par le trisulfure d'arsenic seul et qui avait eu une rechute a guéri également par l'emploi alternatif de l'atoxyl et du trisulfure d'arsenic.

L'orpiment à l'intérieur a donné des résultats plus satisfaisants que le trisulfure d'arsenic colloïdal en injections sous cutanées; ces injections sont douloureuses, irritantes et elles provoquent souvent des abcès ou des gangrènes. Plusieurs cobayes, après des injections faites dans les muscles des cuisses, ont eu des gangrènes des doigts des pattes postérieures.

IV

TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES PAR L'ATOXYL ET L'IODURE D'ARSENIC

L'iodure d'arsenic a été employé en solution, par la voie hypodermique ou par ingestion, en pilules.

La solution d'iodure d'arsenic à 1 pour 500 dont nous nous sommes servis est irritante; injectée sous la peau, à la dose de 4 à 5 c. c., elle provoque souvent des eschares assez étendues; injectée dans les muscles des cuisses, elle est mieux supportée, mais là encore elle donne lieu souvent à des abcès, à des eschares et à la gangrène des doigts des pattes postérieures. On évite en partie ces accidents quand on a soin de cautériser la peau au point d'injection, de façon à ne pas entraîner de microbes, et en employant bien entendu une solution stérile.

Un cobaye de 300 à 500 grammes supporte 1 centigramme d'iodure d'arsenic en injection sous-cutanée; cette dose qui déjà détermine de l'amaigrissement chez certains cobayes ne semble pas devoir être dépassée.

2 cobayes ont reçu 2 injections d'atoxyl alternant toutes les 48 heures avec 2 injections d'iodure d'arsenic; 3 autres ont reçu 2 fois, à 5 ou 7 jours d'intervalle, une injection d'atoxyl suivie, 48 heures après, d'une injection d'iodure d'arsenic.

Les accidents locaux provoqués par les injections sous-cutanées d'iodure d'arsenic nous ont conduits à essayer ici, comme pour le trisulfure d'arsenic, de la voie stomacale. Nous avons employé des pilules préparées d'après la formule suivante :

Iodure d'arsenic.....	0 gr. 50
Gomme arabique.....	} Q. S.
Poudre de réglisse.....	
Pour 100 pilules de 5 milligrammes chaque.	

Un cobaye de 300 à 500 grammes supporte bien, par la voie stomacale, une dose d'iodure d'arsenic double de celle qui peut être injectée sous la peau, soit 2 centigrammes. Quand les cobayes ont déjà ingéré 1 ou 2 doses, on peut aller jusqu'à 2^{gr},5 mais les animaux perdent de leur poids et il paraît indiqué de n'atteindre cette dose qu'en fin de traitement.

Les animaux soumis au traitement atoxyl — iodure d'arsenic en pilules ont reçu 5 injections d'atoxyl alternant avec les ingestions de pilules d'iodure d'arsenic.

A. Cobayes traités par les injections hypodermiques alternatives d'atoxyl et d'iodure d'arsenic.

Sur 6 cobayes ainsi traités, 2 paraissent guéris; les 4 autres

ont eu des rechutes. Nous donnerons seulement les observations des 2 cobayes guéris.

Cobaye 1. — Inoculé avec *Tr. dimorphon* le 7 octobre 1907. — 28 octobre. Trypan. rares. P = 565 grammes. Atoxyl, 4^{gr}, 50. — 29, les trypan. ont disparu. — 30. Iodure d'arsenic, 1 centigramme. — 1^{er} novembre. P = 465 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 3. Iodure d'arsenic, 1 centigramme. Du 29 octobre 1907 au 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu. Le 5 novembre, le cobaye pèse 465 grammes; le 18, 505 grammes; le 29, 627 grammes; le 10 décembre, 630 grammes et le 25, 690 grammes; le 7 janvier 1908, 700 grammes.

Cobaye 2. — Inoculé de Mbori le 31 juillet 1907. — 26 octobre. Trypan. non rares. Iodure d'arsenic, 1 centigramme en injection dans les muscles des caisses (solution 1 p. 500). Le 26 octobre, le cobaye pèse 435 grammes. — 27. Les trypan. ont disparu. — 4 novembre. Sans attendre la rechute qui paraît très probable, d'après d'autres observations, à la suite d'une seule injection d'iodure d'arsenic, le cobaye est soumis au traitement mixte par l'atoxyl et l'iodure d'arsenic. Atoxyl, 2 centigrammes. — 6. P = 440 grammes. Iodure d'arsenic, 1 centigramme. — 12. P = 440 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 14. Iodure d'arsenic, 1 centigramme. — 15. P = 410 grammes. — 18. P = 380 grammes. Amaigrissement notable par conséquent. Eschare au point d'inoculation de la solution d'iodure d'arsenic (paroi abdominale). Du 27 octobre 1907 au 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu. Le cobaye pèse, le 27 novembre, 415 grammes; le 25 décembre, 500 grammes et, le 7 janvier 1908, 510 grammes.

B. Cobayes traités par les injections hypodermiques d'atoxyl et par les pilules d'iodure d'arsenic.

Sur 4 cobayes ainsi traités, 1 paraît guéri, 2 paraissent être en bonne voie de guérison, mais le traitement n'est pas terminé depuis assez longtemps pour qu'on puisse conclure : le 4^e a eu une rechute, 12 jours après la dernière prise de pilules, et il est mort de trypanosomiose. Nous donnerons seulement l'observation du cobaye qui paraît guéri.

Cobaye 3. — Inoculé le 23 septembre 1907 avec *Tr. soudanense*. Le cobaye traité d'abord par l'acide arsénieux seul, a une rechute après laquelle il est soumis au traitement mixte par les injections hypodermiques d'atoxyl et les pilules d'iodure d'arsenic de 5 milligrammes chaque. — 9 novembre. Trypan. rares. Atoxyl, 2 centigrammes. — 11. Les trypan. ont disparu 4 pilules d'iodure d'arsenic. — 13. P = 500 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 15. P = 490 grammes. 5 pilules d'iodure d'arsenic. — 18. P = 450 grammes. Atoxyl, 4^{gr}, 50. — 20. P = 470 grammes. 4 pilules d'iodure d'arsenic. — 22. P = 450 grammes. Atoxyl, 4^{gr}, 50. — 24. P = 440 grammes. 4 pilules. — 26. P = 440 grammes. Atoxyl, 4^{gr}, 50. — 28. P = 440 grammes

4 pilules. — Du 11 novembre 1907 au 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu. Le 10 décembre, le cobaye pèse 520 grammes et le 24, 610 grammes. A partir du 20 novembre, les hématies ne s'agglutinent plus. — 6 janvier 1908, le cobaye pèse 680 grammes.

En résumé, abstraction faite des 2 cobayes traités par l'atoxyl et les pilules d'iodure d'arsenic dont le traitement n'est pas terminé depuis assez longtemps pour qu'il soit possible de conclure, nous voyons que, sur 8 cobayes soumis au traitement mixte par l'atoxyl et l'iodure d'arsenic, 3 paraissent guéris; les autres ont eu des rechutes.

V

TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES PAR L'ATOXYL ET L'ACIDE ARSÉNIEUX.

Sur 3 cobayes soumis au traitement mixte par l'atoxyl et l'acide arsénieux, 1 a succombé au cours du traitement à une congestion pulmonaire, les 2 autres paraissent guéris. L'atoxyl a été donné en injections hypodermiques; l'acide arsénieux, en solution à l'intérieur (solution à 1 0/00 de Loeffler et Rühs); l'intervalle entre les injections d'atoxyl et les ingestions d'acide arsénieux était de 48 heures; les cobayes 1 et 2 dont nous donnons ci-dessous les observations ont reçu 5 injections d'atoxyl et ont ingéré 5 fois de l'acide arsénieux.

Cobaye 1. — Inoculé de Surra le 17 septembre 1907. — 4 octobre. P = 355 grammes. Trypan, nombreux. Atoxyl, 1^{ccr},5 (en injection hypodermique). — 6. Les trypan. ont disparu. Acide arsénieux, 2 milligrammes (par ingestion). — 8. P = 365 grammes. Atoxyl, 1^{ccr}, 50. — 10. P = 380 grammes. Acide arsénieux, 2 milligrammes. — 12. P = 375 grammes. Atoxyl, 1^{ccr}, 50. — 14. P = 395 grammes. Acide arsénieux 2 milligrammes. — 16. P = 500 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 18. P. = 400 grammes. Acide arsénieux, 2^mgr,5. — 20. P = 375 grammes. Atoxyl 1^{ccr},5. — 22. P = 395 grammes. Acide arsénieux, 2^mgr, 5. — Du 6 octobre 1907 au 15 février 1908, les trypanosomes n'ont pas reparu. Le 18 novembre, le cobaye pèse 440 grammes; le 29, 560 grammes; le 10 décembre, 595 grammes et le 25 décembre, 645 grammes. Pendant le mois de décembre, il n'y a plus d'agglutination des hématies. — Le 7 janvier 1908, le cobaye pèse 690 grammes.

Cobaye 2. — Le cobaye qui a été inoculé de Surra, présente, le 14 octobre, des trypanosomes non rares. P = 495 grammes. Atoxyl, 1^{ccr}, 50 en injection hypodermique. — 15 octobre. Les trypanosomes ont disparu. — 16. P = 500 grammes. — Acide arsénieux, 3 milligrammes (solution de Loeffler et

Rühs, par ingestion). — 18. P. = 460 grammes. Atoxyl, 1^{gr},50 — 20. P = 455 grammes. Acide arsénieux, 3 milligrammes. — 22. P. = 450 grammes. Atoxyl, 1^{gr},50. — 24. Acide arsénieux, 3 milligrammes. — 26. P = 435 grammes. Atoxyl, 1^{gr},50. — 28. P = 465 grammes. Ac. arsénieux, 3 milligrammes. — 30. P = 435 grammes. Atoxyl, 2 centigrammes. — 1^{er} novembre, P = 435 grammes. Ac. arsénieux, 4 milligrammes. — Du 15 octobre 1907 au 15 février 1908, tous les examens du sang sont négatifs. Le 18 novembre, le cobaye pèse 520 grammes et le 27, 500 grammes. Le 13 décembre, il pèse 520 grammes et le 24, 550 grammes. — 6 janvier 1908, le cobaye pèse 575 grammes.

Les résultats du traitement mixte par l'atoxyl en injections hypodermiques et l'acide arsénieux en solution, par la voie gastrique, ont été en somme satisfaisants (2 guérisons sur 3 animaux traités).

CONCLUSIONS

1^o Le traitement mixte par l'atoxyl et les sels de mercure (biiodure ou sublimé) a donné, chez les cobayes infectés de trypanosomes, des résultats médiocres (3 guérisons sur 12 cobayes traités), supérieurs cependant à ceux fournis par l'atoxyl seul.

2^o Aucun des cobayes traités par l'atoxyl seul n'a guéri.

3^o L'acide arsénieux employé seul a donné des résultats variables suivant le mode d'administration. Les cobayes traités par l'acide arsénieux en ingestion tous les 5 jours (5 doses), suivant la méthode préconisée par Loeffler et Rühs, sont morts ou ont eu des rechutes; 3 cobayes traités par l'acide arsénieux donné tous les deux jours à doses croissantes (5 doses) ont guéri. Les injections intra-péritonéales de la solution d'acide arsénieux ont donné de mauvais résultats.

4^o L'acide arsénieux, alors même qu'il était administré à forte dose, et à doses répétées, n'a montré aucune activité pour la prévention des trypanosomiasés chez le cobaye.

5^o Le trisulfure d'arsenic employé seul en solution colloïdale (en injections hypodermiques ou par ingestion), ou en ingestion sous forme de pilules, a donné 6 guérisons sur 13 cobayes traités. L'orpiment en pilules (1 à 4 pilules de 4^{mgr},5 pour un cobaye de 500 grammes en moyenne; 5 doses à 2 ou 5 jours d'intervalle) a fourni les résultats les plus satisfaisants (2 guérisons sur 3 cobayes traités).

6^o C'est l'emploi alternatif de l'atoxyl en injections hypoder-

miques et du trisulfure d'arsenic (solution colloïdale en injections hypodermiques ou pilules d'orpiment) qui a donné la proportion la plus forte de guérisons. Sur 7 cobayes traités par cette méthode, il y a eu 7 guérisons. Il s'agissait souvent de cobayes qui, traités antérieurement par d'autres méthodes, avaient eu des rechutes. ce qui est une mauvaise condition au point de vue du traitement.

Les médicaments ont été donnés alternativement, à 24 ou à 48 heures d'intervalle; l'atoxyl à la dose de 2 centigrammes (5 doses) et l'orpiment à celle de 9 à 18 milligrammes (5 doses), pour des cobayes de 500 grammes environ.

L'emploi de l'orpiment par ingestion est préférable à celui de la solution colloïdale de trisulfure d'arsenic en injections hypodermiques, les injections produisant souvent des accidents locaux.

7° Le traitement mixte par l'atoxyl en injections hypodermiques et l'iodure d'arsenic par la voie hypodermique ou à l'intérieur, en pilules, a donné 3 guérisons sur 8 cobayes traités, résultats de beaucoup inférieurs à ceux du traitement par l'atoxyl et l'orpiment.

8° Le traitement mixte par l'emploi alternatif, à 48 heures d'intervalle, de l'atoxyl en injections hypodermiques et de l'acide arsénieux à l'intérieur (atoxyl 1^{er}, 50 à 2 centigrammes et acide arsénieux, 2 à 4 milligrammes; 5 doses de chaque) a réussi 2 fois sur 3, mais la toxicité de l'acide arsénieux dont les doses efficaces sont voisines des doses toxiques, constitue un grave inconvénient de ce procédé.

9° Il serait évidemment prématuré de tirer de nos expériences, faites sur des cobayes infectés avec des trypanosomes autres que *Tr. gambiense*, des conclusions en ce qui concerne le traitement de la trypanosomiasse humaine; mais, étant donné que le traitement mixte par l'atoxyl et l'orpiment nous a permis d'obtenir 7 fois sur 7 la guérison des cobayes infectés, nous pensons qu'il y aura lieu de poursuivre des recherches dans cette voie. C'est croyons-nous sur l'homme lui-même, sur les malades atteints de trypanosomiasse, que la nouvelle méthode devra être expérimentée¹. L'emploi de l'atoxyl combiné à celui

1. Plusieurs malades à notre connaissance sont déjà soumis à la médication mixte atoxyl-orpiment.

de l'orpiment ne présente pas de difficultés et il sera moins dangereux que celui de l'atoxyl seul, s'il permet d'obtenir la guérison sans employer des doses très fortes et souvent répétées de ce médicament.

Il faudra rechercher jusqu'à quelle dose on peut prescrire, sans inconvénients, l'orpiment. Les arsénicophages de Styrie commencent, dit-on, par des doses de 2 à 3 centigrammes et ils arrivent à ingérer jusqu'à 20 à 25 centigrammes d'orpiment¹. D'après nos recherches, l'accoutumance aux arsénicaux est rapide, au moins chez le cobaye. A un homme adulte, nous pensons qu'on pourrait donner d'abord 3 centigrammes d'orpiment (en pilules) et arriver assez rapidement à faire ingérer 10 à 15 centigrammes.

1. BEAUGRAND, Art. Arsénicophages in *Diction.encyclop. des Sc. méd.*

Une Conception générale des anticorps et de leurs effets.

2^o Les anticorps des albuminoïdes et des cellules.

PAR MM. M. NICOLLE ET G. ABT.

Ce travail ne fait que continuer le précédent; aussi entreprenons-nous d'emblée dans le plein du sujet. Rappelons, simplement, qu'il s'agit toujours des *anticorps artificiels*.

ALBUMINOCOAGULINES ET ALBUMINOLYSINES

Les précipitines représentent, sans conteste, les albumino-coagulines. Après avoir résumé leurs caractères principaux, nous établirons l'existence d'anticorps opposés, les albuminolysines, qui ne sont autres que les « sensibilisatrices de Gengou », dont le rôle a été totalement méconnu.

I

Les précipitines jouissent du pouvoir de condenser les divers albuminoïdes animaux (humeurs, extraits cellulaires), végétaux et microbiens (filtrats et extraits bactériens, notamment). *In vitro*, elles se fixent sur les antigènes correspondants (en suivant les lois communes aux divers anticorps), les coagulent et, partant, les précipitent dans les conditions de mélange et de concentration saline convenables. Lorsqu'on fait agir sur les albuminoïdes soit la chaleur, soit certains réactifs chimiques, on voit que la précipitabilité diminue progressivement et finit par disparaître, tandis que le pouvoir fixateur se conserve plus longtemps. On ne saurait s'en étonner, car il va de soi qu'un antigène, rendu artificiellement moins coagulable, peut *consommer* beaucoup d'anticorps sans que sa condensation augmente au point de permettre la genèse d'un précipité.

La coagulation des albuminoïdes par les précipitines se trouve liée au pouvoir fixateur et à la coagulabilité de ceux-ci d'une part, à la « force » des sérums d'autre part. Plus un sérum

est « fort », plus il devient capable de précipiter, si on ne le dilue point trop, non seulement des antigènes voisins, mais encore des antigènes parfois assez éloignés. A mesure que l'on étend un tel sérum, la spécificité reparaît, de plus en plus étroite.

Les précipitines déterminent donc, *in vitro*, une modification physique évidente des albuminoïdes; à cette modification succèdent, d'après nous, des changements chimiques qui ne sont jamais aussi intenses qu'*in vivo*. *In vivo*, il y a fixation, coagulation (*sans précipitation*), puis destruction sous l'influence des lysines. La fixation au sein de l'organisme est démontrée par la baisse immédiate du pouvoir précipitant, chez les sujets traités qui reçoivent une nouvelle injection d'antigène.

II

Voici maintenant, selon nous, comment on doit se représenter les albuminolysines. *In vitro*, elles se fixent sur les albuminoïdes homologues (même altérés) et, grâce au pouvoir activant des compléments qu'on leur associe, les « dissolvent » et en libèrent des poisons, auxquels nous donnons le nom d'*endotoxines vraies* (la libération est ordinairement fort limitée *in vitro* et ne s'accompagne, d'ailleurs, d'aucun phénomène appréciable aux yeux). Lorsqu'on fait agir sur les albuminoïdes soit la chaleur, soit certains réactifs, la « solubilité » diminue peu à peu, mais moins que le pouvoir fixateur (il est certain, par exemple, que les extraits bactériens de Wassermann et Bruck, qui avaient conservé intact ce pouvoir fixateur *tout en devenant imprécipitables*, étaient loin de posséder leur « solubilité » originelle).

La lyse des albuminoïdes se trouve liée au pouvoir fixateur et à la « solubilité » de ceux-ci d'une part, à la « force » des sérums d'autre part. Plus un sérum est fort, plus il devient capable de « dissoudre » non seulement les antigènes voisins, mais encore etc..., *comme nous venons de le voir à l'occasion des précipitines*. Les transformations d'abord physiques puis chimiques des albuminoïdes, déterminées par les albuminolysines, se montrent autrement intenses *in vivo* qu'*in vitro*. *In vivo*, il y a fixation, puis « dissolution » plus ou moins brutale, avec intoxication proportionnelle. La fixation dans l'économie est

prouvée par la baisse du pouvoir lytique, chez les sujets hypersensibles qui reçoivent une nouvelle injection d'antigène — baisse que traduit *schematiquement* à nos yeux l'antianaphylaxie *quasi instantanée* des « cobayes-Th. Smith » (Besredka et Steinhardt). — Rappelons ici que, pour nous, l'action lytique est toujours précédée d'une coagulation.

Telle est notre conception des albuminolysines. On peut établir aisément, *in vitro*, la présence de ces anticorps dans le sérum des sujets hypersensibles ; on peut même, parfois, mettre en évidence la formation d'un poison plus ou moins actif. D'autre part, l'étude de l'hypersensibilité vis-à-vis des albuminoïdes vérifiera intégralement ce que nous avons avancé, touchant les réactions des albuminolysines *in vivo*.

La légitimité de la méthode de Bordet-Gengou a été mise hors de doute dans le travail précédent ; inutile d'y revenir. Passons donc, immédiatement, à l'exposé des recherches (entreprises par l'un de nous avec la collaboration du Dr Pozerski) qui démontrent la constance des lysines chez les « cobayes-Th. Smith » et chez les « lapins-Arthus ». Voici le résumé de ces recherches.

Phénomène de Th. Smith, réalisé avec le sérum de chien. — 4 cobayes de taille moyenne reçoivent, dans les muscles, 1/200 de c. c. de sérum de chien (chauffé 1/2 h. à 55°). Les sérums de ces animaux, examinés par le procédé Bordet-Gengou, après 23 et 35 jours (0,3 c. c. de sérum, pour 0,05 c. c. de complément ancien), déviaient, *sans précipiter*, en présence des sérums de chien, de lapin et de bœuf (0,05 c. c.) ; un mélange de sérums normaux ne déviait point dans les mêmes conditions. Pour une augmentation modérée du complément, la déviation par les sérums spécifiques se maintenait intégralement *en présence du sérum de chien*, mais devenait incomplète en présence des sérums de lapin et de bœuf. — L'épreuve intracérébrale a montré la parfaite hypersensibilité de nos cobayes. 3 ont succombé très rapidement ; le 4^e, qui s'était remis, après avoir été très malade, est mort « sur la table », à la suite de l'injection intraveineuse de 2 c. c. de sérum de chien (chauffé), injection absolument inoffensive pour les sujets neufs.

Phénomène de Th. Smith, réalisé avec le sérum de cheval. — Une trentaine de cobayes, petits ou moyens, ayant servi au titrage du sérum antidiphthérique ou traités par 1/200 de c. c. de sérum de cheval (chauffé) et tous hypersensibles, comme l'ont démontré les épreuves intracérébrale ou intraveineuse, ont été saignés (une ou plusieurs fois) 15 jours à 2 mois 1/2 après l'injection. Déviation constante pour chaque animal (*sans précipitation*), en présence du sérum équin (absence de déviation, au contraire, de la part

des sérums normaux, dans les mêmes conditions). Trois sérums « spécifiques » ont été mis comparativement en présence des sérums de *cheval* et de *lapin* : déviation dans les 2 cas, pour 0,05 c. c. de complément. Mais, en augmentant un peu la quantité de ce complément, la déviation ne s'est pas maintenue intégralement dans le cas du *sérum de lapin*.

Phénomène d'Arthus, réalisé avec le sérum de cheval. — 8 lapins, de 600-800 grammes, ont reçu, quotidiennement, 1 c. c. de sérum équin (chauffé) dans le péritoine; 7 n'ont manifesté aucun trouble de la santé générale jusqu'au 31^e jour, le 8^e a été pris de paraplégie, avec incontinence des réservoirs, après la 27^e injection. Les 8 animaux ont été saignés le 31^e jour et éprouvés le lendemain : 4, dont le paraplégique, sous la peau, 1 c. c. de sérum équin chauffé; les 4 autres, dans la chambre antérieure de l'œil (trace de sérum). Chez les premiers, œdème énorme, répondant au type dénommé inflammatoire par l'un de nous; chez les seconds, violente réaction oculaire avec conjonctivite et hypopyon (rien de tel, chez les lapins témoins). — Les sérums des 8 lapins précipitaient le sérum de cheval 0,3 c. c. de sérum « spécifique » pour 0,05 c. c. d'antigène et 0,05 c. c. de complément ancien) plus ou moins abondamment et déviaient en sa présence. Pour un excès suffisant de complément, on arrivait à déterminer, avec certains sérums, un fléchissement du pouvoir fixateur, sans rapport inverse avec l'intensité, préalablement observée, du pouvoir précipitant.

D'autre part, les sérums « spécifiques » déviaient, à la fois, avec 0,05 c. c. de complément, en présence des sérums de *cheval*, de *bœuf* et de *cobaye* (qu'ils précipitaient inégalement, mais le sérum de cheval toujours plus que les autres). Pour une augmentation légère du complément, on arrivait à obtenir l'hémolyse complète en présence des sérums de *bœuf* et de *cobaye*, alors que la déviation persistait intégralement en présence du sérum de cheval (expérience faite avec 4 des sérums spécifiques).

En résumé; le sérum des cobayes ou des lapins, hypersensible vis-à-vis d'un sérum étranger, contient toujours des albuminolytines. Le degré de spécificité de ces anticorps, *in vitro*, correspond à celui que Rosenau et Anderson ont observé, *in vivo*, dans leurs études sur le phénomène de Th. Smith.

Pour mettre en évidence les poisons libérés *in vitro* au cours de l'albuminolyse, on peut s'adresser à des antigènes déjà toxiques chez les sujets sains, mais les expériences demeurent alors peu démonstratives. Il vaut donc bien mieux opérer avec des antigènes inoffensifs au regard de l'organisme neuf, ce qui suppose l'emploi de sérums très actifs et d'albuminoïdes très « solubles ». D'où, la rareté des résultats positifs. En voici cependant un, indéniable. Vaughan et Wheeler ont réussi, comme nous le verrons, à rendre les cobayes hypersensibles

vis-à-vis de l'ovalbumine, qui les tue alors très vite, notamment par la voie péritonéale. Or, si l'on ajoute de l'ovalbumine au liquide de lavage abdominal d'un sujet qui vient de succomber ainsi, que l'on porte à l'étuve et que l'on injecte ensuite le mélange dans le ventre d'un sujet neuf, celui-ci manifestera des signes non équivoques d'empoisonnement, dus au poison vrai, libéré *in vitro*.

Ceci nous conduit à l'histoire de ces *poisons vrais* (endotoxines vraies). Depuis de longues années, Vaughan et ses élèves ont poursuivi l'étude des agents toxiques, contenus au sein des albuminoïdes et des cellules les plus divers. Ils ont posé en principe que les opérations suivantes : coagulation par l'alcool absolu ; traitement par l'éther ; dessiccation ; puis extraction (3 fois répétée) à 78° par 15-20 parties d'alcool absolu, sodé à 2 0/0 — séparent la substance des albuminoïdes et des cellules en deux fractions : l'une soluble dans l'alcool absolu et toxique, l'autre insoluble et inoffensive. La première représente le poison vrai, auquel on a affaire dans l'infection et l'hypersensibilisation naturelles ou provoquées (Vaughan laisse de côté ce qui concerne les « toxines solubles ») et dans les expériences effectuées avec les microbes morts ou les albuminoïdes. Le « poison de Vaughan » est soluble dans l'alcool absolu et dans l'eau ; il offre les caractères de précipitation des albumoses (le chlorure de platine, notamment, l'entraîne en totalité). Il doit varier fort peu d'un antigène à l'autre, car, quelle que soit son origine, les effets demeurent identiques *in vivo* et ces effets ne diffèrent point selon l'espèce animale : on a toujours affaire à un *poison du centre respiratoire, qui agit sans incubation*, par les diverses voies (sauf par ingestion, où il demeure inoffensif). Pour une dose convenable, les questions d'âge et de susceptibilité individuelle disparaissent. Prenons, comme animal réactif, le cobaye. Si l'on introduit une quantité mortelle de poison dans le péritoine, les accidents vont se dérouler en 3 stades : au bout de 5 à 10 minutes, agitation, prurit (que nous rapprocherons de celui que l'on observe si fréquemment avec les « endotoxines brutes » et au cours de la « maladie sérique »), troubles de coordination, souvent accompagnés d'une parésie qui atteint surtout les pattes postérieures — puis, hypo-

thermie (banale, rappelons-le, après les injections intrapéritonéales d'antigènes de toute espèce) et chute sur le côté — enfin, convulsions, qui annoncent fatalement la mort. Celle-ci survient, après une 1/2 heure à 1 heure, par arrêt respiratoire; le cœur continue, ensuite, à battre pendant quelques minutes. Aucune lésion, quand on examine le cadavre. Une dose non mortelle peut déterminer les phénomènes les plus graves, mais, tant que les convulsions n'apparaissent point, la guérison demeure certaine et s'accomplit rapidement; on laisse pour mort un cobaye couché sur le côté, froid et comateux, et, deux heures après, on retrouve un sujet absolument normal. Les animaux ne succombent à l'injection sous-cutanée qu'avec des quantités de poison supérieures à celles qui tuent dans le péritoine; toutefois, les accidents demeurent identiques; les 3 stades sont même mieux marqués. L'injection intraveineuse, au contraire, nécessite moins de substance active que l'injection intra-abdominale; les cobayes présentent immédiatement une dyspnée violente avec rétraction du sternum et périssent « sur la table », par arrêt consécutif de la respiration. — Les sujets hypersensibles ne se montrent pas plus vulnérables que les sujets normaux, vis-à-vis des « poisons de Vaughan ».

Tels sont les effets de la *partie soluble*, impropre à déterminer l'immunité et l'hypersensibilité contre l'antigène d'où elle provient. Le *résidu*, inoffensif, jouirait, au contraire, de ce double pouvoir, mais serait incapable, comme cela se conçoit, d'hypersensibiliser vis-à-vis de lui-même, puisqu'il ne contient plus de poison.

Le savant américain a surtout étudié le *b. coli* et l'*ovalbumine*. Nous avons fait, de notre côté, depuis un an, de nombreuses recherches avec le *b. coli*, le *b. tuberculeux*, le sérum normal de cheval et 2 types différents de « peptones » (Witte et Defresne), ce qui nous permettra de discuter utilement la question des « poisons de Vaughan », après avoir, tout d'abord, reconnu le *haut intérêt* des recherches entreprises à Ann Arbor.

L'action de la soude en solution alcoolique, sur les albuminoïdes et les cellules, demeure assez obscure. Il est certain, comme le dit Vaughan, que l'on se rapproche des conditions d'une hydrolyse alcaline, mais, à l'hydrolyse, s'ajoute l'attaque,

plus ou moins profonde, des acides aminés et diaminés, avec départ d'hydrogène sulfuré et d'ammoniaque (aussi bien, le poison obtenu est-il acide). D'autre part, l'hydrolyse se fait moins rapidement dans l'alcool que dans l'eau et sa nature peut être différente. Le produit toxique offre incontestablement les caractères des albumoses et n'a pas été obtenu aux dépens de la peptone Defresne, dépourvue de ces substances.

La séparation, en fraction toxique non antigène et fraction inoffensive antigène, n'est pas aussi absolue que l'admet l'auteur américain. Elle semble presque complète avec le *b. coli* et l'ovalbumine; et, pourtant, Vaughan a pu immuniser le cobaye et le lapin, contre le *b. coli*, avec le poison du *b. coli* et celui de l'ovalbumine. L'attaque du *b. tuberculeux* nous a fourni une fraction soluble, peu toxique et hypersensibilisante vis-à-vis de la tuberculine; et un résidu, encore moins toxique et hypersensibilisant vis-à-vis de lui-même et de la tuberculine. Par l'attaque du sérum normal de cheval, nous avons obtenu 3 fractions solubles (respectivement dans les alcools à 100°, 95° et 80°), dont une seule (celle soluble dans l'alcool à 95°) s'est montrée toxique; le résidu a pu hypersensibiliser contre lui-même et contre le sérum équin. Nous reviendrons, plus tard, sur les rapports de la toxicité et du pouvoir antigène; pour le moment, demandons-nous si les « poisons de Vaughan » sont identiques ou non aux « endotoxines vraies », libérées par les actes lytiques. *Quantitativement*, le rendement, dans le procédé chimique, apparaît comme misérable¹; il fallait pourtant s'y attendre. Que peut-il y avoir de commun entre la technique forcément brutale, imaginée à Ann Arbor, et le jeu délicat d'une lysine? *Qualitativement*, il serait plus que téméraire, cela va sans dire, d'affirmer l'identité des produits actifs obtenus *in retorta* avec ceux qu'engendrent les anticorps. Mais nous pensons que ces produits actifs ne sont pas foncièrement différents des poisons vrais et, pour dire le fond de notre pensée, que des médicaments, efficaces contre les seconds, réussiraient vraisemblablement contre les premiers. Nous basons notre manière de voir sur l'analogie complète et le caractère univoque des accidents réalisés d'une part (chez les sujets sains ou hypersensibles) avec les divers « poi-

1. Il suffit de jeter les yeux sur nos expériences, pour se convaincre immédiatement que la masse des « poisons de Vaughan » est composée d'éléments inactifs.

sons de Vaughan » — *d'autre part* soit chez les sujets sains avec les endotoxines déjà nocives « normalement », soit chez les sujets hypersensibles avec les endotoxines « normalement » inoffensives (et, *a fortiori*, avec les autres), *toutes les fois que l'on se place dans les conditions d'une lyse rapide.*

Voici, maintenant, le résumé des expériences que nous avons entreprises, en suivant la technique américaine, sur le sérum de cheval et les peptones Witte et Defresne.

Étude du sérum normal de cheval. — Le sérum a été traité successivement par l'alcool et l'éther; puis, séché et soumis à l'action de l'alcool sodé, d'après le procédé de Vaughan. Seul, de tous les antigènes étudiés par nous, il a donné, par évaporation de l'alcool (neutralisé puis filtré) et en dehors d'un produit soluble à froid dans l'alcool absolu, deux produits solubles à 45° dans le même liquide, mais se précipitant à froid et pouvant être repris, respectivement, par l'alcool à 80° et l'alcool à 95°. D'où, 3 *fractions*, solubles dans les alcools : à 100° (10 0/0 de l'antigène — traité par l'alcool et l'éther, puis desséché); à 95° (6 0/0); à 80° (18 0/0).

Ces 3 fractions, en solution aqueuse, ont été injectées comparativement aux animaux. Voici les résultats obtenus. 1^{re} *fraction* : inoffensive pour le cobaye, aux doses de 150 milligrammes dans le péritoine et de 20 milligrammes dans les veines. 2^e *fraction* : a déterminé une intoxication grave, mais non mortelle, chez le cobaye, par injection intrapéritonéale de 150 milligrammes; a tué le même animal, en 2', dans les veines, à la dose de 50 milligrammes. 3^e *fraction* : inoffensive, comme la première. — La seconde fraction n'est pas plus toxique pour les « cobayes Th. Smith » « préparés » avec le sérum équin que pour les sujets normaux; elle ne détermine point l'hypersensibilité des cobayes, quand on administre des doses correspondant aux doses hypersensibilisantes de sérum équin.

Le résidu paraît inoffensif, lorsqu'on l'injecte dans le péritoine du cobaye; mais, si on introduit, quotidiennement, 20 milligrammes sous la peau des lapins, les animaux offrent des réactions anormales, à partir de la 4^e séance (*phénomène d'Arthus*). — Le résidu, injecté sous la peau du lapin, *hypersensibilise* également celui-ci vis-à-vis du sérum de cheval, administré par la même voie. Ainsi, 2 animaux, qui avaient reçu tous les jours 20 milligrammes de résidu, ayant été « éprouvés », le lendemain de la 12^e séance, avec 2 centimètres cubes de sérum ont offert : le premier, la réaction appelée inflammatoire par l'un de nous; le second, une *nécrose aseptique*. Deux autres sujets, traités quotidiennement par la voie intrapéritonéale (20 milligrammes de résidu, chaque jour) et « éprouvés », le 13^e jour, dans la chambre antérieure (avec une trace de sérum), ont manifesté une réaction marquée. — Le résidu hypersensibilise aussi le cobaye, comme le prouve l'expérience suivante. 4 animaux reçoivent 20 milligrammes de résidu dans le péritoine. Après 15 jours, un sur deux succombe à l'injection intracrânienne de 1/4 de centimètre cube de sérum équin; un sur deux succombe à l'injection intraveineuse de 2 centimètres cubes (l'autre, très malade, finit par se remettre)

— *Le sérum des cobayes et des lapins hypersensibilisés par le résidu dévie le complément en présence du sérum de cheval*, comme l'un de nous l'a établi avec Pozerski.

Etude de la peptone Witte. — Traitée par la méthode de Vaughan, elle a fourni 30 0/0 de *produit soluble* dans l'alcool absolu. Ce produit, repris par l'eau, tuait le cobaye, dans le péritoine, en 23' environ, à la dose de 100 milligrammes; et, dans les veines, en quelques instants, à celle de 5 milligrammes; l'ingestion s'est montrée inoffensive. Un lapin a succombé, « sur la table », après avoir reçu 60 milligrammes par la voie intraveineuse. — *Le résidu* ne jouissait point de propriétés toxiques.

Etude de la peptone Defresne. — Traitée par le procédé américain, elle a fourni 30 0/0 de *produit soluble* dans l'alcool absolu. Ce produit, comme le *résidu*, n'a manifesté aucune toxicité.

IMMUNITÉ ET HYPERSENSIBILITÉ VIS-A-VIS DES ALBUMINOÏDES

Il faut distinguer entre les *albuminoïdes toxiques* et les *albuminoïdes inoffensifs* (pour la majorité des espèces). Avec les seconds, que nous étudierons tout d'abord et principalement, on peut obtenir une hypersensibilité qui atteint parfois le plus haut degré connu et qui demeure *pure* dans certains cas; et une immunité de nature variable, tantôt liée à la production de coagulines, tantôt due au fléchissement du pouvoir lytique acquis.

I

Les albuminoïdes inoffensifs pour l'organisme normal, tels que les sérums et l'ovalbumine, sont susceptibles de devenir toxiques pour l'organisme hypersensibilisé (mieux vaudrait dire *sensibilisé*). La preuve en est fournie par les trois syndromes bien connus : *phénomène de Th. Smith* (Rosenau et Anderson, Otto, Besredka et Steinhardt, Vaughan), *phénomène d'Arthus* (Arthus, von Pirquet et Schick, l'un de nous), *maladie sérique humaine* (v. P. et S.). Dans le ph. de Th. Sm., une seule administration de sérum ou d'ovalbumine suffit pour hypersensibiliser les animaux, qui succombent d'ordinaire à la réinjection (« épreuve ») ou offrent tout au moins des symptômes graves (à condition que cette réinjection soit pratiquée à un moment convenable et par une voie convenable) — dans le ph. d'Arthus, l'hypersensibilité apparaît à la suite de l'administration répétée

de l'antigène — enfin, dans la maladie sérique, la première injection de sérum, *qui peut déterminer déjà des accidents*, rend l'économie hyper-vulnérable vis-à-vis d'une seconde intervention. Nous passons donc, par l'intermédiaire de la maladie sérique, des albuminoïdes inoffensifs aux albuminoïdes toxiques après une longue incubation ; et ceux-ci nous conduisent, à leur tour, aux albuminoïdes toxiques après une courte incubation. C'est toujours affaire de « solubilité » de l'antigène d'une part et de pouvoir lytique, normal ou acquis, de l'autre.

La production de l'hypersensibilité vis-à-vis des albuminoïdes inoffensifs et de l'immunité (par coagulines) qui peut l'accompagner se trouvent liées à celle des anticorps déterminants et, partant, à l'organisme, à l'antigène et aux conditions d'introduction de celui-ci. — ORGANISME. *L'espèce* joue un rôle prépondérant (le ph. de Th. Sm. type est propre au cobaye ; le ph. d'Arthus type se voit surtout chez le lapin et le pigeon ; la maladie sérique semble spéciale à l'homme) ; mais la *race* n'est point indifférente (les cobayes américains se montrent bien plus hypersensibilisables vis-à-vis des sérums et de l'ovalbumine que les cobayes français, comme l'ont observé Besredka et Steinhardt), ni l'âge (le ph. de Th. Sm. demeure moins typique chez les gros cobayes), ni le *facteur individuel* (inutile d'y insister, car il est d'observation courante). — ANTIGÈNE. Selon sa *nature* et les *modifications* qu'on lui apporte, non moins que selon l'organisme en jeu, le développement des anticorps suivra un cours des plus variables. Tantôt, il y aura formation exclusive de lysine (« cobayes-Th. Sm. » traités par les sérums) tantôt apparition concomitante de coaguline (« cobayes-Th. Sm. » traités par l'ovalbumine, « lapins-Arthus » traités par les sérums). Les travaux d'Obermeyer et Pick nous ont appris que les albuminoïdes altérés de différentes manières peuvent engendrer des anticorps différents, dont l'interaction *in vitro* révèle des faits très intéressants ; il y aurait au lieu de rechercher ce qui se passerait alors *in vivo* pour le type Arthus et le type Th. Smith. Enfin, les études de Vaughan (ovalbumine) et les nôtres (sérum de cheval) établissent que les albuminoïdes, traités par la méthode américaine, fournissent un *résidu* susceptible d'hypersensibiliser les animaux. Rien d'étonnant à cela,

puisque ce résidu représente une substance très décoagulée ; essentiellement lysogène, par conséquent, d'après les idées exposées dans le travail précédent. — CONDITIONS D'INTRODUCTION DE L'ANTIGÈNE. Une très faible *dose* de celui-ci suffit pour permettre le ph. de Th. Sm. et se montre même préférable à des quantités tant soit peu marquées. Une seule injection de sérum rend l'homme hypervulnérable vis-à-vis du sérum équín et confère déjà nettement au lapin une sensibilité anormale vis-à-vis de ce même sérum ou d'autres albuminoïdes. On connaît, d'autre part, l'influence des doses répétées sur la production du ph. d'Arthus type. La *voie d'introduction* se montre très importante dans le ph. d'Arthus, parce qu'elle se confond, dès la seconde séance, avec la *voie d'épreuve*. Cette dernière commande absolument les résultats dans le ph. de Th. Sm., quand on a affaire à des races relativement peu hypersensibilisables.

Pour bien analyser les *effets* de l'hypersensibilité vis-à-vis des albuminoïdes inoffensifs et de l'immunité de nature variable observée chez les animaux traités par ces substances, il convient de passer succinctement en revue les 3 syndrômes déjà mentionnés.

PH. DE TH. SMITH. — Les cobayes, qui ont reçu de faibles doses de divers sérums ou d'ovalbumine, réinjectés après 10-12 jours, présentent des accidents en général fort graves, souvent même mortels à bref délai. Les symptômes sont *exactement* ceux que l'on obtient avec les poisons de Vaughan (« syndrome de Vaughan »). Il faut tenir grand compte ici, avons-nous dit, de la race à laquelle appartiennent les sujets ; les cobayes américains peuvent être tués par la voie péritonéale et même sous-cutanée, tandis que les cobayes français ne fournissent un taux élevé de mortalité que si l'on recourt à la voie intracérébrale (Besredka et Steinhardt — ou, mieux encore selon nous, à la voie intraveineuse). L'âge offre également une importance marquée, les gros animaux résistant, habituellement, à l'épreuve dans le cerveau ; le fait n'est pas niable ; toutefois, il suffit d'introduire l'antigène dans les veines pour déterminer la mort « sur la table ». Les sujets, qui ont reçu préalablement un sérum donné, se montrent hypersensibles à divers autres sérums, mais ne succombent point ; ils succombent, ensuite, quand on les éprouve avec le sérum homologue (Rosenau et

Anderson); nos recherches *in vitro* expliquent clairement le caractère relatif de la spécificité observée dans le ph. de Th. Smith. Ajoutons que l'hypersensibilité des cobayes femelles se transmet au fœtus (R. et A., Vaughan et nous mêmes).

Besredka et Steinhardt ont étudié très minutieusement, sous le nom d'*antianaphylaxie*, l'état réfractaire qui succède aux « épreuves » non mortelles et que R. et A. avaient déjà décrit. Ils ont fait voir que les cobayes hypersensibles, remis d'une injection intracérébrale, demeuraient indifférents, pendant longtemps, à l'égard de toute nouvelle intervention. Mais il y a plus; en introduisant le sérum équin dans le péritoine avant l'épreuve intracérébrale (ne fût-ce que 1 h. 1/2 auparavant), ils ont réussi à conférer d'emblée et régulièrement l'état réfractaire. Celui-ci, *quelle qu'en soit la durée*, aboutit derechef à l'hypersensibilité.

L'hypersensibilité des « cobayes Th. Sm. » s'explique sans difficulté par le développement d'une lysine, ainsi qu'il résulte de nos recherches; l'absence de coaguline concomitante (dans le cas des sérums) en fait même le type de l'hypersensibilité pure. L'« antianaphylaxie » résulte de la *baisse* du pouvoir lytique; elle n'est jamais absolue, semble-t-il, car on peut tuer les animaux « réfractaires » par la voie intraveineuse. (Chez les sujets auxquels nous faisons allusion, il existait encore de la lysine dans les humeurs, après l'administration intracérébrale bien supportée). — L'excès de sérum, non décomposé lors de l'effet Besredka-Steinhardt, suffit à engendrer (avec le temps) assez de lysine supplémentaire pour que l'organisme récupère son titre albuminolytique initial.

D'après Besredka — et telle est absolument notre opinion — la cellule nerveuse ne joue aucun rôle dans la production de l'hypersensibilité. Nous la considérons comme subissant, passivement, les effets du poison vrai, libéré par albuminolyse. Aussi, en supprimant, grâce à la narcose, son affinité pour ce poison, arrive-t-on à empêcher la mort des animaux (Besredka).

PH. D'ARTHUS. — Les lapins, soumis d'une façon répétée (quotidiennement ou à plusieurs jours d'intervalle), aux injections sous-cutanées de sérum équin, manifestent, tout d'abord, des réactions locales de plus en plus marquées; puis, tantôt l'hypersensibilité demeure stationnaire (avec des oscillations, d'une

séance à l'autre), tantôt elle progresse et aboutit à la nécrose aseptique. La mort par cachexie, avec ou sans complications infectieuses, s'observe très fréquemment (voir le travail de l'un de nous, sur le phénomène d'Arthus, où l'histoire de ce syndrome est étudiée avec tous les détails nécessaires). L'administration intrapéritonéale répétée du sérum équin reste, par contre, bien tolérée de la part du plus grand nombre des sujets; il faut savoir, cependant, que certains animaux mourront cachectiques, avec ou sans paraplégie antécédente, avec ou sans infection surajoutée. Mais les lapins, traités par les injections intrapéritonéales, se montrent toujours hypervulnérables lors de l'épreuve sous-cutanée ou intraoculaire (ce dernier mode, très sensible et absolument démonstratif dans les cas d'hypers. légère, a été indiqué par Arthus, il y a déjà longtemps, à l'un de nous), inconstamment vis-à-vis de l'épreuve intraveineuse ou intracérébrale. L'injection répétée de sérum, dans les veines, fournit des résultats très variables; tantôt elle est bien supportée; tantôt elle tue les sujets, soit très vite, soit à la longue. Elle hypersensibilise régulièrement pour l'épreuve sous-cutanée. — Le *pigeon* se comporte comme le lapin, en ce qui concerne le phénomène d'Arthus (recherches inédites de Jouan).

Le sérum des « lapins-Arthus » renferme de la coaguline, comme chacun le sait et de la lysine, comme nous l'avons établi. Les résultats variables, observés lors des injections sous-cutanées, ne font que traduire à nos yeux la proportion variable des deux anticorps. La tolérance habituelle, vis-à-vis des injections intrapéritonéales, s'explique par une coagulation habituellement rapide et intense de l'antigène introduit; dans le tissu cellulaire (ou la chambre antérieure) *des mêmes animaux*, comme dans celui des chevaux immunisés contre les « toxines solubles », la coagulation ne sera ni assez rapide ni assez intense et la lyse aura, conséquemment, tout le temps de s'accomplir. La diversité des phénomènes, consécutifs à l'injection intraveineuse, tient à une simple affaire d'élimination ou de non élimination du poison vrai. Enfin, le peu de sensibilité des lapins, vis-à-vis de l'épreuve intracérébrale, s'explique vraisemblablement de la même façon que leur peu de sensibilité vis-à-vis des injections intrapéritonéales; si les « cobayes Th. Sm. » se

comportent autrement, c'est qu'ils n'ont pas formé de coaguline.

Rappelons, en terminant, que l'hypersensibilité des « lapins Arthus » est transmissible par le sérum, comme l'un de nous l'a démontré.

MALADIE SÉRIQUE. — Les individus qui ont reçu divers sérums thérapeutiques, offrent, plus ou moins fréquemment, des accidents aujourd'hui bien connus et deviennent en outre hypersensibles vis-à-vis d'une nouvelle injection (nous renvoyons, pour tout ce qui concerne la « maladie sérique », à la monographie classique de v. Pirquet et Schick). Les accidents éclatent après 8-12 jours; c'est la « maladie à incubation normale ». Dans les premiers temps qui suivent, la réinjection détermine la *réaction immédiate*, ou « maladie sans incubation », à laquelle succède ou non la *réaction précoce*, ou « maladie à incubation raccourcie ». Plus tard, cette dernière seule s'observe. Le sérum des individus, traités par les anticorps thérapeutiques, contient de la coaguline et, sûrement aussi, de la lysine. Lorsque cette dernière prédomine avant la disparition de l'antigène, les accidents sériques éclatent. Tant que la lysine demeure largement « disponible », la réaction immédiate est fatale; ultérieurement, la réaction précoce seule pourra se produire.

II

Nous ne dirons que quelques mots, au sujet des *albuminoïdes déjà toxiques* pour les sujets « neufs ».

On vient de voir que les *sérums*, les plus inoffensifs en apparence, recèlent de violents poisons. La quantité de ces derniers varie d'un échantillon à l'autre et peut s'élever considérablement pour les sérums thérapeutiques, comme l'a démontré Besredka, par des titrages comparés sur les « cobayes Th. Sm. ». A mesure qu'un sérum s'enrichit en anticorps, il s'enrichit donc en « endotoxine » *propre* : c'était à prévoir; aussi bien, Latapie n'a-t-il pas observé que le sérum de chèvre devient toxique pour le cobaye après injection du bacille de Pfeiffer, à une période où l'endotoxine du microbe introduit ne peut plus être incriminée.

Mais il est, on le sait, des sérums normaux déjà nuisibles par eux-mêmes et contre lesquels on peut hypersensibiliser et immuniser. Nous n'aborderons point leur histoire, parce que

ces sérums contiennent certainement des « toxines solubles » à côté de leurs « endotoxines » et qu'on n'a pas encore établi la part respective des deux sortes de poisons (bruts) dans l'action toxique globale. Rien ne dit même que les sérums inoffensifs ne renferment pas une « toxine soluble » *inoffensive* comme l'est la toxine diphtérique pour le rat. Bornons-nous à faire connaître que l'activité des sérums normalement dangereux s'accroît au cours de l'immunisation; l'un de nous a remarqué, jadis, que le sérum des bovidés devenait extraordinairement toxique pour le cobaye, lorsque ces animaux avaient reçu, à maintes reprises, des bacilles pesteux ou du virus de la peste bovine.

À côté des sérums, il nous faudrait parler des *extraits cellulaires* et des *filtrats microbiens*; mais ce serait faire double emploi avec qui va suivre.

CYTOCOAGULINES ET CYTOLYSINES

Nous résumerons les caractères bien connus des cytocoagulines (*agglutinines*) et des cytolyssines en conservant, à dessein, le même plan et en employant presque les mêmes termes que pour les autres coagulines et lysines déjà décrites.

I

Les agglutinines jouissent du pouvoir de condenser la substance des cellules vivantes ou mortes (et des spores bactériennes) et de paralyser les éléments mobiles. *In vitro*, elles se fixent sur les antigènes correspondants (en suivant les lois communes aux divers anticorps), les coagulent et, partant, les précipitent dans des conditions de mélange et de concentration saline convenables. Lorsqu'on fait agir, sur les cellules, soit la chaleur, soit certains réactifs chimiques, on voit que l'agglutinabilité diminue progressivement et finit par disparaître (elle reparait parfois, à une température supérieure, pour les bactéries chauffées); le pouvoir fixateur se maintient plus longtemps. L'agglutinabilité des spores fléchit moins facilement que celle des germes correspondants, pris à l'état végétatif.

La coagulation des cellules par les agglutinines se trouve liée au pouvoir fixateur et à la coagulabilité de celles-ci d'une part, à la « force » du sérum d'autre part. Lorsqu'un sérum est

« fort », il devient capable d'agglutiner non seulement les antigènes voisins, mais encore, etc... *comme pour les précipitines*. Rappelons que plus une bactérie est virulente, moins elle se montre sensible à l'action des agglutinines — et qu'on a pu, artificiellement, créer des races inagglutinables, comme aussi rendre *in vitro* leur agglutinabilité aux microbes qui l'avaient perdue *in vivo*.

Les agglutinines déterminent, *in vitro*, une modification physique (puis chimique) des cellules, laquelle atteint surtout (peut-être même exclusivement) les parties limitantes de celles-ci (« enveloppes » et cils), ainsi que l'ont montré Ch. Nicolle et Defalle — d'où changement dans les relations d'équilibre des antigènes avec leur milieu et agglomération.

In vivo, il y a fixation, coagulation (*sans agglutination*), puis destruction sous l'influence des lysines. La fixation, au sein de l'organisme, est démontrée par la baisse immédiate du pouvoir agglomérant, chez les sujets qui reçoivent une nouvelle injection d'antigène. La coagulation devient de plus en plus énergique et finit par gagner la totalité de la cellule, qui peut succomber rapidement s'il s'agit d'un élément vivant. Ce qui nous porte à admettre cette *mort par coagulation*, c'est, d'abord, le fait (rappelé dès le début du travail précédent) que les anticorps agissent *in vivo* d'une façon continue et, partant, avec plus d'intensité qu'*in vitro*; ensuite, la rencontre banale — chez les sujets infectés — de bactéries d'aspect et de colorabilité normales, dont on n'arrive point à obtenir des cultures dans les milieux les plus favorables.

II

In vitro, les cytolysines se fixent sur les antigènes correspondants (même altérés) et, grâce au pouvoir activant des compléments qu'on leur associe, les « dissolvent » et en libèrent des poisons considérés par nous comme les « endotoxines vraies » (la quantité libérée demeure ordinairement faible *in vitro*). La « dissolution » serait impossible à mettre en évidence, sans le procédé de Bordet-Gengou, toutes les fois qu'il s'agit d'éléments difficilement attaquables soit d'emblée (nombreuses bactéries et *a fortiori*, leurs spores), soit après

tels ou tels traitements préalables. Et la chose se conçoit sans peine, car, pour une *consommation* relativement *énorme* d'anticorps, la lyse demeure alors imperceptible. Parfois, au contraire, cette lyse se traduit par des phénomènes caractéristiques : mort des cellules, transformations morphologiques plus ou moins profondes — mais, rarement, par une « dissolution » totale.

In vivo, l'attaque est bien autrement marquée. La lysine se fixe (comme le démontre la baisse immédiate du pouvoir dissolvant, chez les sujets qui reçoivent une nouvelle injection d'antigène), puis décoagule, avec une vitesse variable, les cellules correspondantes : le degré d'intoxication observé donne la mesure de cette vitesse. Nous y reviendrons, en étudiant l'hypersensibilité vis-à-vis des cellules. — Rappelons ici que, selon nous, l'action lytique est toujours précédée d'une coagulation.

Pour mettre en évidence les poisons libérés, *in vitro*, par la destruction des cellules, on peut s'adresser à des antigènes déjà toxiques chez les sujets sains, mais les expériences demeurent alors peu démonstratives ; il vaut donc bien mieux opérer avec des antigènes inoffensifs au regard de l'organisme neuf, ce qui suppose l'emploi de sérums très actifs et de cellules très « solubles ». D'où la rareté des résultats positifs. En voici cependant un, indéniable, que nous devons à Batelli et qui peut se schématiser ainsi : le sérum de lapin normal ne « dissout » pas les hématies de chien ou de bœuf ; le sérum de lapin, traité par ces mêmes globules, les dissout — le mélange de sérum de lapin normal et d'hématies de chien ou de bœuf peut être injecté impunément dans les veines des animaux ; le mélange de sérum de lapin traité et d'hématies détermine une mort rapide.

Inutile d'insister à nouveau sur les « poisons de Vaughan » que l'on peut extraire des cellules. Bornons-nous à résumer les recherches que nous avons entreprises, en suivant le procédé américain, avec le *b. coli* et le *b. tuberculeux*.

Étude du *b. coli*. — Traité par la méthode de Vaughan, il a fourni, lors d'une *première opération*, 20 0/0 de *produit soluble* dans l'alcool absolu. Ce produit, repris par l'eau, tuait le cobaye, dans le péritoine, en 25' environ, à la dose de 30 milligrammes ; dans les veines, en quelques instants, à celle

de 3 milligrammes; et, dans le cerveau, en quelques heures, sous le même poids. Un lapin est mort, dans la nuit, après avoir reçu 40 milligrammes par la voie intraveineuse. Le produit d'une *seconde opération* s'est montré moins toxique (il a fallu 100 milligrammes pour tuer le cobaye dans le péritoine).

Le *résidu* (de la 2^e opération) était inoffensif, pour le cobaye, à la dose il a de 200 milligrammes (voie intraabdominale). 20 milligrammes ont été injectés sous la peau des lapins, sans déterminer d'hypersensibilité; le sérum de ces animaux n'a d'ailleurs jamais dévié le complément en présence du *b. coli* ni de ses extraits. 2 milligrammes ont été injectés dans le péritoine d'un cobaye; 15 jours après, cet animal a été « éprouvé », par la voie intracérébrale, avec 1 centigramme de bacilles vivants (*b. coli* très peu virulent, provenant d'une gélose de 24 heures — on s'est adressé aux microbes frais, pour avoir un antigène facilement décoagulable) : mort dans la nuit, *alors que le témoin résistait*. 1 milligramme de résidu a été injecté, quotidiennement, dans le péritoine d'un cobaye; après 15 jours, épreuve intra-abdominale, avec 1 c. c. de culture virulente (24 heures — bouillon-ascite) : survie, *alors que le témoin succombe* dans la nuit. Le sérum des deux cobaye, dont il vient d'être question déviait le complément en présence du *b. coli* et de ses extraits.

Étude du bacille tuberculeux. — Traité par la méthode de Vaughans il a fourni, en deux attaques, 18 0/0 de *produit soluble* dans l'alcool absolu (aucune différence de toxicité entre la première et la seconde fraction). Ce produit, repris par l'eau, ne tuait le cobaye, dans le péritoine, qu'à la dose de 150 milligrammes et, dans les veines, qu'à celle de 15 milligrammes. *Il ne s'est pas montré plus toxique pour les sujets tuberculeux*. Mais il a pu hypersensibiliser les cobayes vis-à-vis de la tuberculine. En effet, deux animaux, qui avaient reçu, respectivement, 6 milligrammes dans les veines et 80 milligrammes dans le péritoine, « éprouvés » 13 jours après, dans le cerveau, avec 12^{mgr},5 d'une tuberculine assez faible (dose inoffensive pour 5 témoins), ont succombé en 4-5 heures. Le sérum de ces cobayes déviait le complément en présence de la tuberculine.

Le *résidu* était très peu toxique (il en fallait 1 gramme — dose, il est vrai, totalement indifférente aux sujets neufs — pour tuer les cobayes tuberculeux dans le péritoine). Cependant, les lapins auxquels on en administrait, quotidiennement, 20 milligrammes sous la peau, offraient, parfois dès la 3^e injection, des réactions anormales (*phénomène d'Arthus*) et le sérum déviait le complément en présence de la tuberculine. Le résidu jouissait aussi du pouvoir d'hypersensibiliser les animaux vis-à-vis de la tuberculine. Un lapin, qui avait reçu, 15 jours de suite, 20 milligrammes sous la peau, a succombé, après 4 heures, à l'injection de 50 milligrammes d'une tuberculine assez faible dans le cerveau (*deux témoins* n'ont manifesté aucun trouble). Un cobaye, qui avait reçu 20 milligrammes dans le péritoine, est mort en 6 heures, le 15^e jour, après avoir été éprouvé par 12^{mgr},5 de la même tuberculine (voie intra-cérébrale); tandis qu'un second sujet, qui avait reçu 15 jours de suite 20 milligrammes dans le péritoine, a parfaitement résisté. De même que pour les sérums normaux, l'ovalbumine et le *b. coli*, une seul

dose déterminedonc l'hypersensibilité, des doses répétées l'immunité (chez le cobaye). Le sérum des deux animaux dont il vient d'être question déviait le complément en présence de la tuberculine.

IMMUNITÉ ET HYPERSENSIBILITÉ VIS-A-VIS DES CELLULES

Nous étudierons, successivement, ce qui a trait aux *cellules non microbiennes*, vivantes ou non (la différence entre les premières et les secondes demeure pratiquement négligeable, puisqu'il s'agit d'éléments incapables de se développer *in viro*) — aux *microbes morts* — et aux *microbes vivants*.

I

L'histoire de l'immunité et de l'hypersensibilité vis-à-vis des *cellules non microbiennes* reproduit, *servilement*, celle de l'immunité et de l'hypersensibilité vis-à-vis des albuminoïdes. Et c'était à prévoir d'avance, car, au point de vue antigène, une cellule ne représente qu'un « albuminoïde figuré ». Il nous faut donc distinguer entre les *cellules toxiques* et les *cellules non toxiques* (pour l'organisme normal). Les premières ont été assez peu étudiées; les effets obtenus sont absolument les mêmes qu'avec les microbes, aussi n'insisterons-nous point. Les secondes, au contraire, notamment les hématies, ont fait l'objet de recherches fort nombreuses, dont les résultats sont pleins d'intérêt, ainsi qu'on va le voir.

Il est plus que probable que le *ph. de Th. Smith* pourrait être réalisé (chez le cobaye, naturellement) avec diverses cellules et surtout avec des cellules « très solubles », tels les globules rouges; nous n'avons pas eu le temps d'effectuer des expériences sur ce point. Par contre, chaque fois que l'on traite les animaux de laboratoire dans le but d'obtenir des cytotoxines, on se comporte comme si l'on voulait prendre le contre-pied du *ph. d'Arthus*; on a grand soin, en effet, de n'employer que les injections intrapéritonéales, qui réduisent au minimum les pertes engendrées par l'hypersensibilité.

La production de cette hypersensibilité vis-à-vis des cellules inoffensives et de l'immunité associée que l'on cherche donc à rendre habituellement prépondérante, se trouve liée (non moins que dans tous les cas déjà envisagés) à celle des anticorps déter-

minants et, partant, à l'organisme, à l'antigène et aux conditions d'introduction de celui-ci. — ORGANISME. Toutes les espèces ne conviennent pas également à l'obtention de telle ou telle cytotoxine, c'est un fait connu; en présence de résultats négatifs ou médiocres, il est indiqué de choisir, comme fournisseur de sérum, une espèce très éloignée de celle à laquelle sont empruntés les éléments antigènes (Delezenne. — On connaît, inversement, le peu de tendance de l'organisme à former des *iso* et des *autotoxines*.) D'autre part, étant donnée une cellule, toutes les espèces qui la reçoivent ne produiront pas la même proportion de coaguline et de lysine. — ANTIGÈNE. Inutile d'insister sur sa *nature*; certains éléments se montrent plus aptes que d'autres à engendrer des anticorps; certains engendrent plus facilement des coagulines que des lysines et *vice versa*. Les *modifications*, apportées aux cellules, exagèrent ces différences. La chaleur et les réactifs coagulants font fléchir le pouvoir antigène et arrivent finalement à le supprimer; mais, comme on devait le prévoir, d'après ce qui a déjà été dit antérieurement, le pouvoir lysogène disparaît bien avant le pouvoir coagulogène. Réciproquement, l'injection des parties les moins condensées des cellules ou des produits de décondensation de celles-ci favorise la prédominance, voire l'apparition exclusive des lysines : liquide de laquage ou extrait acétonique des globules rouges, urine normale... pour ce qui concerne les hémotoxines. — CONDITIONS D'INTRODUCTION DE L'ANTIGÈNE. Les fortes doses donnent surtout naissance aux agglutinines, les faibles doses aux lysines; confirmation nouvelle de la loi indiquée dans le travail précédent. La meilleure *voie*, comme toujours, est la voie intrapéritonéale, quand on veut éviter l'hypersensibilité. Mentionnons, en passant, l'ingestion qui équivaut simplement, ici comme ailleurs, à l'administration d'une quantité restreinte d'antigène. — La spécificité des cytotoxines demeure très relative, à moins qu'on ne pratique le traitement des animaux avec les « nucléoprotéides », extraites des cellules par les moyens connus (Pearce, Beebe, Bierry). — L'administration des mélanges « sérum + cellules » n'engendre que peu d'anticorps ou même échoue complètement; cela tient à ce que la destruction de l'antigène a été rendue trop rapide.

Chez les animaux traités, les lysines et les coagulines

naissent généralement en même temps. Leurs quantités respectives régissent les phénomènes d'hypersensibilité et d'immunité ; aussi, la formation exclusive de lysine fait-elle courir les plus grands dangers à l'organisme qui l'a réalisée. Toutefois, il ne faut pas oublier que l'apparition des accidents toxiques est soumise, non seulement aux proportions respectives de coaguline et de lysine, mais encore à la quantité d'antigène administrée lors des réinjections et à la voie d'introduction choisie. Chaque fois, répétons-le, que la coagulation de l'antigène peut être suffisamment rapide et intense, la lyse demeurera lente et l'intoxication fera défaut : c'est ce qui arrive, habituellement, quand on emploie la voie intrapéritonéale ; chaque fois que la coagulation de l'antigène ne peut se produire avec assez de vitesse et d'intensité, la lyse s'opérera rapidement et l'empoisonnement deviendra inévitable : c'est ce que l'on observe lors des injections sous-cutanées. *Tout dépend exclusivement de la vitesse de décoagulation de l'antigène et, partant, de la vitesse de libération du poison vrai.* La voie intraveineuse se montre ordinairement plus dangereuse, ici, que dans le cas des sérums normaux ; on doit voir l'unique raison de cette différence dans la grande « solubilité » habituelle des « endotoxines » cellulaires. Les expériences de Batelli le démontrent clairement, pour ce qui concerne les hématies.

Le sérum des animaux traités transmettra, selon ses caractères, l'immunité ou l'hypersensibilité aux sujets neufs. Mais il convient de distinguer deux cas. Le premier — superposable à tous ceux que nous connaissons déjà — concerne les expériences où un animal neuf, appartenant ou non à l'espèce qui a fourni le sérum mais point à celle qui a fourni les cellules, reçoit, simultanément ou successivement, le sérum et les cellules. (Nous retrouverons, cela va de soi, les mêmes conditions à propos des microbes.) Le *second cas, spécial* aux cytotoxines, concerne les expériences où un animal neuf, appartenant à l'espèce qui a fourni les cellules, reçoit une injection de sérum préparé avec ces mêmes cellules. Lorsque le sérum est doué de propriétés fortement lytiques, il en résulte double dommage pour le sujet : destruction d'éléments parfois indispensables à la vie (neurotoxines — Delezenne) et empoisonnement par décoagulation des éléments atteints

Revenons au *premier cas* et « illustrons-le » d'un exemple classique. Lorsqu'on injecte, aux animaux neufs, soit simultanément soit successivement, un sérum hémotoxique et des globules rouges homologues (choisis, bien entendu, parmi ceux que n'attaque point l'organisme de ces animaux), les effets varieront selon que ce sérum contiendra, ou non, un excès de lysine et selon l'importance de cet excès. On peut les schématiser par la gamme montante qui suit : destruction « silencieuse » des hématies; phénomènes généraux peu marqués et transitoires; phénomènes généraux marqués avec hémoglobinurie; phénomènes généraux très marqués allant jusqu'à la mort rapide, voire foudroyante.

Quand il s'agit d'un sujet neuf, dont l'économie renferme les globules sensibles et auxquels on administre une hémoly-sine active, l'intoxication se double, bien entendu, d'une anémie plus ou moins intense.

II

Les *microbes morts* se montrent le plus souvent toxiques; mais il existe, à cet égard, de grandes différences dont on mesure immédiatement l'étendue quand on entreprend des expériences d'immunisation. Il est on ne peut plus facile — trop facile malheureusement — d'hypersensibiliser les animaux avec les germes tués; il est, par contre, fort difficile de les rendre réfractaires et la résistance, péniblement obtenue, demeure toujours très limitée.

Afin de ne point compliquer outre mesure le problème qui nous occupe, nous ne tiendrons ici aucun compte des « toxines solubles » généralement associées, pensons-nous, aux « endotoxines » chez les divers microbes; et l'erreur théorique sera pratiquement pardonnable, parce que la plupart des causes qui amènent la mort des microbes détruisent, complètement ou à peu près, les « toxines solubles », alors qu'elles respectent, au moins en grande partie, les « endotoxines » coexistantes.

L'hypersensibilité et l'immunité se trouvent liées, comme toujours, aux trois facteurs : *organisme, antigène, conditions d'introduction de l'antigène*, qui gouvernent la production des anticorps. Ainsi que pour ce qui concerne les cellules non micro-

biennes, un germe étant donné, toutes les espèces animales ne forment point les anticorps correspondants avec une égale facilité; et celles qui en forment n'engendrent pas les mêmes proportions respectives de coaguline et de lysine. — Les divers microbes ne sont pas également antigènes: ils ne sont point coagulogènes et lysogènes à un degré semblable. Leur toxicité, plus ou moins forte, vient encore compliquer les résultats expérimentaux. Les modifications, que l'on fait subir aux germes, entraînent exactement les mêmes conséquences que dans le cas des cellules non microbiennes (voir plus haut). Nous retrouvons aussi, avec les germes modifiés, des changements qualitatifs du pouvoir antigène, superposables à ceux que les travaux d'Obermeyer et Pick nous ont fait connaître pour les albuminoïdes. Nous savons, d'autre part, que les microbes traités « à la Vaughan » fournissent un résidu susceptible de provoquer l'hypersensibilité. Ajoutons que les germes vivants constituent, à n'en point douter, les meilleurs (ou les moins mauvais) agents d'immunisation contre les germes morts. Et rappelons, pour terminer, que des microbes, vivants ou morts, peuvent immuniser et (plus fréquemment encore) hypersensibiliser les animaux vis-à-vis d'autres germes, ainsi que l'un de nous l'a établi lors de ses études sur la morve, avec de très nombreux exemples à l'appui. — La question des doses se présente comme dans le cas des cellules non microbiennes. — La voie d'introduction la meilleure, quand on veut éviter l'hypersensibilité, reste la voie intrapéritonéale; toutefois, on lui préfère communément la voie intraveineuse, plus commode, mais exposant à plus de dangers.

Les sujets, traités par les microbes morts, produisent habituellement à la fois des coagulines et des lysines, ainsi qu'il est facile de le constater en étudiant leurs sérums au double point de vue de la réaction agglutinante et de la réaction de Bordet-Gengou. Mais, d'ordinaire, la proportion de coaguline formée demeure insuffisante à assurer l'immunité; dans certaines circonstances même, il n'apparaît que de la lysine (c'est le cas des animaux auxquels on injecte les « résidus » de Vaughan).

Les effets de l'hypersensibilité vis-à-vis des microbes morts ont été décrits avec détails par l'un de nous, lors de ses

recherches sur la morve du cobaye et mis très nettement alors sur le compte d'un anticorps (dans le travail dont nous parlons et dans un travail du même auteur, consacré au phénomène d'Arthus, on a évité *volontairement* de faire allusion à la nature lytique des anticorps d'hypersensibilité, afin de ne pas empiéter sur l'étude d'ensemble actuelle). « L'hypers., écrivait-on à propos des bacilles morveux morts, peut se traduire par deux *phénomènes primaires, d'ordre exclusivement toxique* : la réaction locale et la réaction générale (anormales, bien entendu) — et par un *phénomène secondaire d'ordre infectieux* : le réveil ou le développement d'une maladie étrangère (le développement se manifestant, selon les cas, localement ou à distance). » Nous demandons la permission de citer la suite. Cette citation fera bien voir comment se présente l'hypersensibilité vis-à-vis d'un *microbe toxique mort* et démontrera, en même temps, que les idées exposées aujourd'hui sur le sujet qui nous occupe étaient déjà parfaitement nettes dans l'esprit de l'un de nous, lorsqu'il rédigeait le passage suivant.

« RÉACTION LOCALE. — Voyons d'abord ce qui survient, à la suite des *injections sous-cutanées* (microbes tués avec l'alcool-éther, par exemple), chez les sujets hypers. soit par la voie hypodermique, soit par une autre. Nous rencontrons ici toute une *gamme de lésions* des plus instructives, lesquelles sont, en partant de la réaction normale : la réaction prolongée — la réaction prolongée, avec ramollissement partiel (de l'empâtement local) suivi de résorption — la réaction prolongée, avec ramollissement partiel suivi de suppuration — la réaction aiguë, avec suppuration pure et simple — la réaction aiguë, avec escharification cutané-sous-cutanée et suppuration plus ou moins marquée — la réaction suraiguë, avec escharification cutané-sous-cutanée et suppuration uniquement éliminatrice. C'est-à-dire que nous nous trouvons en présence d'une série de phénomènes qui traduisent une *vitesse de réaction* croissante de l'organisme vis-à-vis des germes morts ; le résultat obtenu est le même que si l'on avait multiplié les doses de ceux-ci, de telle sorte que l'on pourrait mesurer pratiquement l'hypers. par le nombre des doses virtuelles surajoutées. Passons, maintenant, aux *injections intrapéritonéales* : ici, c'est tantôt le tableau de la péritonite suraiguë, débutant parfois très peu d'heures après l'introduction des microbes morts ; tantôt celui de l'intoxication plus ou moins lente et souvent mortelle, sans qu'on puisse, comme lors des injections sous-cutanées, analyser les termes intermédiaires. Les *injections intramusculaires* sont encore moins instructives ; rappelons, en passant, le mauvais pronostic qui s'attache à une résorption trop rapide de la tuméfaction fessière.

RÉACTION GÉNÉRALE. — Elle revêt l'apparence d'une *intoxication générale*

injustifiée, de même que la réaction locale représente une *intoxication locale* hors de proportion avec la dose introduite. Son intensité dépend, avant tout, de la voie employée, puis du nombre et de la toxicité des germes morts.

DÉVELOPPEMENT OU RÉVEIL D'UNE INFECTION ÉTRANGÈRE. — Nous entrons ici dans le domaine des *phénomènes secondaires de l'hypers.*, phénomènes dont nous chercherons bientôt l'explication ».

Il suffit de remplacer, dans « vitesse de réaction », le mot « réaction » par le mot « décoagulation » — qui se trouve, d'ailleurs, deux pages plus loin (« *décoagulation des corps microbiens introduits sous la peau* ») et à de nombreux endroits du travail dont nous parlons — pour comprendre que la notion de lyse était considérée comme *évidente* lorsque l'on écrivait les lignes qui précèdent. Celles-ci ont trait aux cobayes hypersensibilisés par les germes morts; les accidents demeurent les mêmes, chez les sujets préalablement traités par les germes vivants; toutefois, si les microbes n'ont pas encore disparu lors de l'épreuve, on peut observer, en dehors de la *réaction locale* et de la *réaction générale*, une *réaction à distance*, dont nous renvoyons l'étude au chapitre suivant, afin d'éviter les redites. (Le mécanisme, qui engendre le développement ou le réveil des infections étrangères, sera aisément déduit de celui qui engendre la réaction à distance). — Le bacille tuberculeux se comporte tout à fait comme le bacille morveux, pour ce qui concerne les phénomènes d'hypersensibilité; il suffit de le rappeler ici.

On sait qu'il est difficile d'immuniser les animaux contre une quantité tant soit peu marquée de microbes morts; et que les sujets, rendus tolérants vis-à-vis des germes tués introduits par la voie péritonéale, se montrent encore sensibles aux doses équivalentes injectées sous la peau et sont exposés à succomber très vite, lorsque celles-ci sont portées directement dans la circulation.

A côté de l'*immunité active*, il convient de mentionner l'*immunité passive*, dont nous devons la découverte aux travaux de Besredka. Besredka a établi que le sérum des chevaux, qui ont reçu pendant longtemps des bacilles typhiques ou pesteux (morts, puis vivants) dans les veines, jouit du pouvoir de neutraliser les effets des « endotoxines » correspondantes. On le

démontre en injectant ces sérums soit par la voie abdominale (mêlés aux bacilles morts), soit par la voie sous-cutanée (de une à 24 heures avant les bacilles morts — toujours administrés dans le péritoine). Nous attribuons l'action « anti-endotoxique » observée aux coagulines très abondantes (et certainement dominantes) dans les sérums employés par Besredka.

III

Nous arrivons, maintenant, à l'histoire des *microbes vivants*. Parmi ceux-ci, il convient de distinguer les *germes saprophytes*, qui se comportent comme les cellules non microbiennes et dont nous ne nous occupons point — et les *germes pathogènes*, que l'on reconnaît à leur virulence plus ou moins marquée et qui seront seuls envisagés ici.

La *virulence* d'un microbe se traduit par l'intensité de son développement *in vivo*; elle n'offre aucun rapport avec l'« endotoxicité » et rien ne prouve, jusqu'à présent, que la production des « toxines solubles » lui soit proportionnelle — loin de là. Nous avons dit, plus haut, qu'à notre avis les « toxines solubles » se trouvaient généralement associées aux « endotoxines, chez les germes vivants. Cette question, qui sera approfondie ultérieurement dans un autre travail, vient compliquer l'étude de l'immunité et de l'hypersensibilité vis-à-vis des microbes. Pour échapper aux inconvénients d'une telle complexité, nous laisserons de côté les germes très « toxigènes », dont le facteur essentiel d'influence nocive est représenté par leurs « toxines solubles » — déjà étudiées précédemment — et nous aurons surtout en vue les germes peu ou point « toxiques », dont nous confondrons volontairement l'histoire avec celle de leurs « endotoxines ». Il deviendra ensuite possible, pour un microbe donné, de déterminer la part respective que prennent les deux sortes de poisons dans les phénomènes d'immunité et d'hypersensibilité.

Admettons donc que nous n'avons devant nous que de simples « endotoxines vivantes ». Le problème est déjà bien plus difficile qu'avec les microbes morts, car la réceptivité des animaux en jeu — affaire, avant tout, de proportion des anticorps normaux « au départ » — se modifiera, pendant le « traite-

ment », dans un sens éminemment variable selon les circonstances. On sait que l'organisme réagit aux antigènes par la formation d'anticorps surabondants et spécifiques. A cette réaction élective de l'économie, rien ne pouvait s'opposer, cela va de soi, pour les antigènes étudiés jusqu'ici (toxines, albuminoïdes, cellules mortes ou tout au moins incapables de développement *in vivo*) et l'on se trouvait en présence d'un acte unilatéral. Avec les microbes vivants, au contraire, il y a *réciprocité complète*, puisque la virulence peut s'exalter non seulement dans le sens quantitatif : augmentation du stock d'endotoxine — mais encore dans le sens qualitatif : adaptation, parfois très étroite (voire exclusive), à tel ou tel organisme. (L'étude de cette adaptation sera entreprise plus tard et ailleurs; elle nécessite des développements assez longs, qui nous entraîneraient tout à fait en dehors de l'histoire, déjà si complexe, des anticorps.)

Nous ne saurions aborder ici, par le menu, l'étude des diverses méthodes de « traitement » susceptibles de déterminer l'immunité ou l'hypersensibilité vis-à-vis des microbes vivants. Mentionnons seulement, sans y insister, la supériorité des germes virulents sur les germes avirulents et des germes vivants sur les germes morts, comme agents d'immunisation. L'emploi des microbes vivants et, *a fortiori*, virulents, demeure malheureusement limité aux cas où l'on réussit à les faire accepter par l'organisme, soit en réduisant leur nombre, soit en choisissant un mode déterminé d'introduction. Partout ailleurs, il faut s'adresser aux germes atténués, affaiblis ou privés de vie — et même aux dérivés microbiens les plus variés. (Lorsqu'il s'agit d'hyperimmuniser les animaux, on inocule ensuite, dès qu'on le peut, des microbes vivants et virulents). Citons encore une méthode de vaccination qui donne, dans certains cas, des résultats satisfaisants; nous voulons parler du procédé des germes dits « sensibilisés » (Besredka). Ceux-ci n'agissent pas seulement (comme on l'a admis jusqu'ici) par la lysine, mais encore et surtout par la coaguline qu'ils ont fixée; autrement, on ne saurait concevoir l'absence de tout phénomène toxique, observée après leur injection. Avec les germes « sensibilisés », l'apparition et la durée de l'état réfractaire dépendent uniquement de la vitesse de destruction de l'antigène; à une destruction trop rapide, correspond

une immunité nulle ou éphémère. C'est affaire de microbe, de sérum, d'espèce d'animale et de conditions d'inoculation.

Au lieu d'administrer des germes chargés d'enzymes digestifs artificiels (et homologues), on peut « mâcher la besogne » aux enzymes normaux en injectant des germes « dissous » (par exemple, des pneumocoques « solubilisés » à l'aide de la bile ou des filtrats de *subtilis* — Neufeld. Adil-bey et l'un de nous) ou des « résidus » (méthode américaine). L'immunité s'établit alors rapidement, quelquefois même très rapidement (avec le résidu du *b. coli*, Vaughan rend le cobaye réfractaire en 30 minutes); mais sa durée est, en général, d'autant plus brève que son apparition a été plus précoce.

(Afin d'éviter des redites, nous renverrons au chapitre des anticorps naturels, pour ce qui concerne les méthodes d'immunisation ou d'hypersensibilisation qui reposent sur l'emploi des microbes étrangers, des sérums normaux, des agents chimiques et des substances indifférentes.)

Suivant les circonstances, le « traitement » des animaux avec les germes vivants, les germes morts, etc... engendre soit l'immunité, soit l'hypersensibilité, soit la succession ou la coexistence de ces deux états opposés. Même variété, quant aux suites de l'infection « naturelle ». *In vitro*, on retrouve le plus souvent coagulines et lysines associées, dans le sérum des sujets « traités » ou infectés. — Passons maintenant en revue, le plus brièvement possible, l'histoire générale des agents des maladies aiguës et chroniques.

Certains microbes d'affections aiguës ne vaccinent point ou ne déterminent qu'une immunité insignifiante et éphémère. Cela peut tenir à la nature médiocrement antigène des germes, à leur développement tout en surface, ou aux deux causes réunies. Les microbes dont nous parlons hypersensibilisent plus ou moins selon les cas.

D'autres germes produisent une immunité marquée et habituellement durable, sans que l'on perçoive jamais de phénomènes d'hypersensibilité. Cela peut résulter de leur caractère très antigène, de leur généralisation, ou des deux facteurs à la fois. Comme exemple d'un état réfractaire « idéal », succédant à une excessive sensibilité, rappelons ce que l'un de nous écrivait

(avec Adil-bey) au sujet de la peste bovine : « l'immunité des animaux guéris se montre pour ainsi dire *illimitée*. A peine sortis de la période fébrile, ils peuvent recevoir, coup sur coup, 4, 8, 10 litres de sang virulent; *jamais* on n'arrive à les tuer, quelle que soit leur race, quel que soit leur âge. » Et comme exemple de deux affections aussi voisines que possible aboutissant, l'une à l'immunité type, l'autre à l'hypersensibilité type, citons la variole et la vaccine. Comme l'ont fait voir v. Pirquet et Schick, dans la peau des revaccinés, les germes jennériens périssent avant de s'être multipliés suffisamment pour engendrer la pustule classique. Leur destruction s'opère d'autant plus vite que l'intervalle entre la revaccination et la vaccination (ou entre deux vaccinations consécutives) a été plus court; on observe, selon les cas, une réaction immédiate ou une réaction précoce, superposables à celles que nous avons rencontrées dans la maladie sérique des mêmes auteurs. C'est aussi le même mécanisme : pure question de lysines (le sérum des revaccinés ne précipite point la lymphe) et de poison libéré d'une façon plus ou moins précoce (et, partant, en plus ou moins grande quantité). On conçoit sans peine comment la « cutiréaction vaccinale », née de l'étude de la maladie sérique, devait fatalement conduire à la « cutiréaction tuberculeuse », même en dehors de toute théorie.

La plupart des germes septicémiques, ainsi que ceux qui jouissent d'un pouvoir envahissant moins marqué et qu'on est obligé, conséquemment, d'injecter dans le péritoine pour tuer les animaux à coup sûr, immunisent, en général, facilement les animaux : on sait qu'ils forment volontiers aussi des anticorps et notamment des coagulines. Toutefois, lorsque la dose d'épreuve est trop considérable ou l'état réfractaire insuffisant, la destruction des germes n'a plus lieu « silencieusement ». Suivant les cas, on voit alors réparaître la sensibilité normale (insuffisance des coagulines néoformées, action des lysines naturelles) ou se manifester l'hypersensibilité (prédominance des lysines sur les coagulines — néoformées les unes et les autres). Cette dernière se reconnaît, de suite, à la précocité et à l'intensité spéciales de la réaction locale; et à sa faible durée, si la dose de microbes injectée n'est pas trop grande. L'hypersensibilité éclate aux yeux lors de l'épreuve sous-cutanée : quand

on inocule les germes dans le péritoine, une hypothermie précoce révélera nettement la libération rapide du poison vrai. Voici, à cet égard, un exemple typique, fourni par Vaughan *junior* : tandis que l'hypothermie ne survient qu'après 8 heures, chez les cobayes neufs auxquels on injecte le *b. coli* vivant, à dose mortelle, dans le péritoine, elle apparaît au bout d'une heure chez les « cobayes-résidus », éprouvés avec la même dose de virus (non mortelle pour eux). Quand on hyperimmunise les chevaux, aux fins d'obtenir des sérums antimicrobiens (*b. typhique*, *b. coli*, *b. de la peste*...), c'est-à-dire quand on administre de grandes quantités de germes vivants, l'immunité *se double toujours d'une hypersensibilité marquée*, qui enlève de temps en temps des animaux (avec le « syndrome de Vaughan ») lors des injections intraveineuses et que l'on met, à volonté, en évidence par les injections sous-cutanées (nous retrouvons, encore une fois, ici l'influence de la masse et du mode d'introduction de l'antigène). A la vitesse de destruction excessive qui caractérise l'hypersensibilité, nous pouvons, avec les microbes vivants, opposer, *preuve en mains*, la lenteur de destruction, parfois très marquée, à laquelle on reconnaît l'immunité : il n'est pas rare, chacun le sait, de rencontrer des germes encore cultivables chez les sujets réfractaires, sacrifiés quelques jours, quelques semaines même (quelques mois, s'il s'agit des spores) après une inoculation d'« épreuve ». Toutefois, dès que le nombre de ces germes cultivables demeure tant soit peu notable passé une certaine limite, il signifie : insuffisance numérique manifeste des anticorps, imminence du réveil des microbes et tendance à leur adaptation.

Nous voici arrivés aux maladies chroniques.

Pour nous, *la chronicité résulte d'une double adaptation incomplète* : l'organisme « se fait » au microbe et le microbe à l'organisme, mais jamais entièrement (ou, alors, la chronicité cesse *ipso facto*). Tandis que, dans les affections aiguës, l'une des deux accoutumances l'emporte rapidement sur l'autre, il s'établit ici une « cote mal taillée ». Equilibre de nature instable et susceptible, cependant, de durer parfois des années, avec oscillations de çà et de là (parfois même sans oscillations appréciables pendant un laps considérable et, peut-être, pendant toute

la vie — syphilis, piroplasmose des bovidés « indigènes »).

Chez l'homme ou l'animal tuberculeux, l'adaptation de l'économie se traduit par la formation d'anticorps (dominance habituelle des lysines); l'adaptation des germes, par l'insensibilité, plus ou moins marquée, vis-à-vis de ces anticorps (que révèle, au contraire, bruyamment tout bacille spécifique *non accoutumé*, à peine introduit (phénomène de Koch). De même, pour l'homme ou l'animal morveux. Dans la tuberculose et la morve, l'organisme peut avoir le dessus, en fin de compte (guérison, avec persistance de la lysine durant un temps variable); le microbe aussi, trop souvent. Dans la syphilis, l'économie peut fléchir temporairement, mais conserve toujours les moyens de se reprendre, car on ne meurt guère que de lésions « mal placées » ou d'infections secondaires. Dans la piroplasmose, il faut l'entrée en scène d'un agent très grave (virus de la peste bovine), pour détruire l'adaptation de l'organisme (Adil-bey et l'un de nous).

Comment se manifeste l'*hypersensibilité vis-à-vis des germes d'infection chronique*? C'est là une question pleine d'intérêt, au point de vue du jeu des anticorps, car nous allons avoir affaire ici, en dehors des réactions locale et générale (déjà étudiées avec les microbes morts), à la *réaction à distance*, propre aux foyers qui contiennent des microbes vivants. Examinons ce qui survient dans la tuberculose et la morve.

TUBERCULOSE. — Wassermann et Bruck admettent que l'organisme des sujets tuberculeux produit une « antituberculine », laquelle offre les caractères d'un ambocepteur et se retrouve au sein des humeurs et des granulômes. Les foyers attirent l'antituberculine et celle-ci attire les compléments; d'où digestion et ramollissement des lésions.

Pour nous, l'antituberculine n'est autre que la lysine de l'« endotoxine tuberculeuse »; on la met facilement en évidence, grâce au procédé de Bordet-Gengou, ainsi que nous avons pu le constater après W. et B. Lorsque l'on injecte l'« endotoxine tuberculeuse » (bacilles vivants ou morts, tuberculines diverses) sous la peau d'un sujet hypersensible, elle est décomposée par la lysine homologue, avec mise en liberté du poison vrai, qui engendre les accidents caractéris-

tiques. La réaction locale traduit alors une concentration notable de l'anticorps dans les humeurs; la réaction éloignée, une concentration notable dans les foyers (W. et B.); la réaction générale, une influence nocive du poison vrai sur les centres, thermiques ou autres. La réaction à distance, isolée, indique une prédominance marquée de la lysine au sein des lésions; la réaction locale, isolée, un épuisement des foyers (W. et B.). Toutes ces variantes rentrent dans la loi générale de formation et de distribution des anticorps. On sait, en effet, que les anticorps commencent par prédominer là où ils prennent naissance, c'est-à-dire au niveau des organes hématopoiétiques, puis abandonnent peu à peu leur lieu d'origine. Le sérum se trouve donc, suivant l'époque considérée, moins riche, aussi riche ou plus riche que le système formateur des anticorps. A ce système normal s'ajoute, dans les maladies chroniques, le système pathologique, représenté par l'ensemble des granulomes — et voilà tout.

MORVE. — L'un de nous ayant étudié, pendant plusieurs années, l'infection morveuse du cobaye, on nous excusera de consacrer à celle-ci plus de développement qu'à la tuberculose. Peu importe d'ailleurs, car les deux affections demeurent absolument comparables au point de vue qui nous occupe.

On a fait voir, dans les recherches dont nous parlons, que les bacilles morveux vivants hypersensibilisent les animaux aux germes morts et aux germes vivants, en vertu d'un mécanisme identique ici et là. Examinons brièvement ces deux cas.

Hypersensibilité aux microbes morts. — Etant donnée la valeur diagnostique communément attribuée à cette hypersensibilité, il ne sera peut-être pas inutile de remettre les lignes suivantes sous les yeux du lecteur.

« Voici un cobaye, sain d'aspect, lequel a été soumis, sans inconvénients visibles, à des injections répétées de microbes vivants, ou bien semble guéri d'une infection morveuse (infection ordinaire, infection d'épreuve...). Nous lui injectons, sous la peau, 1 centigramme Mæ, (bacilles tués par l'alcool-éther); de deux choses l'une : la *réaction locale* sera normale ou non; que penser dans chaque cas? La réaction normale constitue une *très forte présomption* en faveur de l'absence de germes vivants; toutefois, il faut donner à ceux-ci le temps nécessaire pour se manifester, s'ils n'ont point totalement disparu ou, mieux encore, réitérer l'administration de 1 centigramme Mæ. La réaction anormale n'a *aucune valeur*; si le virus

ne se montre point après une première injection de $M_{\alpha\epsilon}$, on la recommencera; s'il n'apparaît pas davantage après la seconde, nous n'hésiterions guère, pour notre part, à affirmer la guérison; s'il continue à ne pas se révéler après la 3^e (*a fortiori* la 4^e, la 5^e...), qui pourrait conserver des doutes sur cette guérison? La réaction anormale indique donc *uniquement* que l'organisme s'est trouvé aux prises, à un moment donné, avec le bacille morveux vivant (ou même, verrons-nous plus tard, avec le b. morveux mort — ou encore avec d'autres germes); ce moment peut être passé ou non; dans le second cas, le virus tardera rarement à « sortir » et cette « sortie » constitue le *seul* signe d'une infection *actuelle*.

La *réaction générale* ne semble point, comme nous l'avons déjà indiqué brièvement, affecter de rapports réguliers (direct ou inverse) avec la réaction locale; sa valeur diagnostique (*quoad infectionem*) est encore moins grande, si possible, que celle de cette dernière.

Les conclusions précédentes n'auraient sans doute pas été très bien accueillies lors des hécatombes en masse qui ont marqué les débuts de la malléinisation. Aujourd'hui, on ne condamne plus impitoyablement à mort tous les chevaux coupables d'avoir réagi, car on a fini par s'apercevoir que beaucoup d'entre eux guérissaient assez rapidement, *sans présenter de signes cliniques*. On n'a jamais eu l'idée qu'une fraction plus ou moins grande de ceux-ci pouvait être déjà guérie avant l'injection de malléine. »

Voici, maintenant, comment était interprété le réveil des lésions morveuses latentes, à la faveur de deux autres cas qui le font mieux comprendre. (Nous abrégons la citation.)

Comment expliquer le *réveil des lésions morveuses latentes*, éventuellement suivi de « métastases »? Pour tâcher d'y arriver, examinons d'abord un cas plus simple, celui des cobayes chez lesquels on introduit deux fois $M_{\alpha\epsilon}$ (bacilles tués par l'alcool-éther) sous la peau, la seconde fois avant que les phénomènes locaux, consécutifs à l'injection précédente (pratiquée loin de là), aient complètement rétrocedé. Le nodule induré, qui représente le dernier vestige de cette injection, devient alors le siège d'une *réaction à distance*, d'intensité variable, mais que nous avons toujours vue se terminer par résorption. Ce nodule, « ce gros tubercule morveux artificiel », pourrait-on dire, contenait donc un excès d'anticorps spécifiques, et ces anticorps ont réagi au passage des substances bacillaires venues du point de la seconde injection — Envisageons, maintenant, le cas d'animaux guéris d'un abcès d'inoculation virulente, mais encore porteurs d'un petit ganglion inguinal, qui s'enflamme et peut suppurer après administration, à distance, de bactéries mortes. Ce ganglion ne diffère de notre « tubercule morveux artificiel » de tout à l'heure que par la présence éventuelle de quelques microbes vivants; il contient donc un excès d'anticorps, susceptible de déterminer, comme tout à l'heure, une réaction plus ou moins forte; pourquoi cette réaction est-elle suivie de multiplication du virus intraganglionnaire, voire de généralisation? On répondra, sans doute, que : « réaction = intoxication » et que : « intoxication = paralysie des défenses de l'orga-

nisme. » Cette *explication, d'ordre général*, ne tient aucun compte d'autres mécanismes favorisant possibles, *de nature spécifique* ; nous y reviendrons bientôt. — Citons, enfin, un troisième cas, fort intéressant lui aussi, et ne différant du premier qu'en ce qu'on inocule des microbes vivants sous la peau des cobayes incomplètement guéris d'une injection antécédente de microbes morts ; ici encore, le « tubercule morveux artificiel » s'enflamme très nettement (puis se résorbe). Le virus « vivant » n'a agi dans ce cas que par les germes déjà morts qu'il contenait, ou par ceux, très affaiblis, que l'organisme a rapidement détruits. »

En écrivant ce qui précède, on a mis volontairement le mot « anticorps » au lieu du mot « lysine », pour des raisons déjà indiquées. Sauf ce détail, nous ne voyons rien à changer ; mais il nous faut approfondir davantage le mécanisme de la « sortie » du virus. La multiplication des bacilles morveux (comme celle des bacilles tuberculeux, dans le cas correspondant) résulte logiquement de la consommation de la lysine spécifique au cours de la réaction d'hypersensibilité et de la lenteur de sa régénération. Les microbes, n'étant plus « bridés » par l'anticorps homologue, ont le temps de se développer librement. La chute du pouvoir lytique engendre une seconde conséquence, de même nature que la précédente, mais d'apparence opposée ; elle rend inefficace, pour quelque temps, toute nouvelle introduction d'« endotoxine », d'où une immunité momentanée vis-à-vis de celle-ci (immunité comparable à l'« anti-anaphylaxie » de Besredka et Steinhardt, étudiée ailleurs).

Le réveil et le développement des infections étrangères, constituant ce que l'un de nous a appelé les « phénomènes secondaires de l'hypersensibilité », s'expliquent de la même façon que le réveil de l'infection homologue ; on y reviendra en parlant des anticorps normaux, afin de ne pas trop surcharger le chapitre présent.

Hypersensibilité aux microbes vivants. — Rappelons simplement ce fait (observé par l'un de nous) : si l'on injecte à plusieurs reprises, sous la peau des cobayes, une dose *inoffensive* de bacilles morveux, il arrivera un moment où se formeront des nodules plus ou moins marqués et plus ou moins durables (toujours absents chez les témoins « neufs »), voire de petits abcès (fertiles).

Comment se présente l'immunité vis-à-vis des germes d'infection

chronique ? Il est difficile de vacciner les animaux contre la tuberculose, moins malaisé de les rendre réfractaires à la morve. Dans ses recherches sur l'immunité morveuse, l'un de nous a précisé nettement (pour la première fois, pensons-nous) les relations que peuvent affecter l'une avec l'autre l'immunité et l'hypersensibilité, ainsi que le prouve le passage suivant, que l'on va rapporter (en l'abrégeant).

« Ceci nous amène à indiquer de quelle manière nous nous représentons les rapports qui unissent l'hypers. à l'immunité. Pour nous, toutes les fois que l'on « immunise » un cobaye contre la morve, il se forme, parallèlement, dans son organisme (bien qu'en proportions variables selon les cas), des substances antimicrobiennes et des substances *présidant à l'hypers.* — ou, pour employer le langage des téléologues, de « bons » et de « mauvais » anticorps.

Si, à la suite de l'immunisation, les « mauvais » anticorps prédominent, les cobayes, après avoir réagi anormalement à l'épreuve par les microbes morts [1 centigramme *Mze* (bacilles tués par l'alcool-éther) sous la peau], ne résisteront point à l'épreuve par les microbes vivants. Inutile d'attendre la fin de l'hypers. pour pratiquer l'épreuve virulente, les « bons » anticorps ayant disparu, bien entendu, avant les « mauvais ».

Si, à la suite de « l'immunisation », les « bons » anticorps prédominent, les cobayes, après avoir réagi normalement à l'épreuve par les microbes morts, résisteront à l'épreuve par les microbes vivants. Il n'y a même pas besoin d'attendre la fin de l'hypers., car les animaux, après avoir réagi anormalement à l'épreuve par les microbes morts, résisteront parfaitement à l'épreuve par les microbes vivants. Il est à remarquer que, lors de celle-ci, l'hypers. continuera parfois à se manifester par une évolution plus rapide des lésions initiales. On va nous demander, immédiatement, si, étant donnés deux cobayes « immunisés » tous les deux et hypers., nous pouvons distinguer celui où prédominent les « bons » anticorps de celui où prédominent les « mauvais ». Nous avouons être incapable d'un tel diagnostic, mais le fait que des sujets hypers. puissent résister à l'infection n'est point exceptionnel et ne saurait s'expliquer autrement que par une prédominance des substances antimicrobiennes sur les substances qui déterminent l'hypers. Ces deux ordres de substances sont donc parfaitement indépendantes les unes des autres et agissent aussi indépendamment. Et un animal hypers. peut être non seulement un animal guéri, mais encore un animal vacciné ! »

Dans l'esprit de l'auteur des lignes qui précèdent, « bons anticorps » signifiait coagulines et « mauvais anticorps » correspondait à lysines.

Concluons qu'il est excessivement difficile de réaliser une concentration suffisante des coagulines chez les sujets traités

par les agents des affections chroniques, sans quoi le problème de l'immunisation contre ces maladies serait définitivement résolu.

Nous terminerons ce long chapitre en disant quelques mots de l'*immunité* et de l'*hypersensibilité passives*, vis-à-vis des germes vivants.

L'immunité antimicrobienne peut se transmettre, soit *artificiellement*, par les sérums (Richet et Héricourt), soit *naturellement*, par l'hérédité (expériences de Vaillard, Remlinger, Widal et Sicard...).

Bail (après Löwenstein) a démontré, grâce à une expérience connue, que l'hypersensibilité pouvait être également transmise par les humeurs. On injecte, dans le péritoine d'un cobaye tuberculeux, des quantités suffisantes de bacilles spécifiques. L'animal meurt rapidement, offrant un exsudat abdominal abondant. On centrifuge cet épanchement; on mêle le liquide clair surnageant avec des proportions convenables de bacilles tuberculeux et on inocule le tout dans le péritoine d'un cobaye neuf. Celui-ci succombe, le plus souvent avant 24 heures. (Nous n'avons pas à insister, ici, sur certains détails de l'expérience de Bail.)

RAPPORTS ENTRE LES ANTICORPS DES ALBUMINOÏDES ET CEUX DES CELLULES ET DES « TOXINES SOLU- BLES » — « TOXINES SOLUBLES » ET « ENDO- TOXINES ».

Ainsi que nous allons le voir, il n'y a lieu d'établir aucune différence entre les anticorps des albuminoïdes et ceux des cellules. Par contre, nous pensons que les anticorps des « toxines solubles » doivent former, comme par le passé, un groupe nettement séparé. Cette distinction va nous amener à approfondir le parallèle des « toxines solubles » et des « endotoxines », simplement indiqué dans le travail précédent.

I

Les sérums agglutinants pour telles ou telles cellules, préci-

pitent d'ordinaire les albuminoïdes dérivés de ces cellules (extraits cellulaires, filtrats microbiens); réciproquement, les sérums, précipitants pour tels ou tels albuminoïdes, agglutinent les cellules dont proviennent ceux-ci. Il est facile d'expliquer le manque de parallélisme (souvent mentionné) entre le pouvoir agglutinant et le pouvoir précipitant, ou l'apparition isolée (assez rare) d'une seule de ces propriétés. D'abord, les conditions expérimentales de l'agglutination et de la précipitation sont absolument différentes et ne varient pas forcément dans le même sens, d'une recherche à l'autre; ensuite, les animaux qui fournissent les sérums agglutinants ou précipitants n'ont pas toujours reçu des antigènes rigoureusement comparables aux antigènes (croisés) sur lesquels on les fait agir — loin de là. — Les sérums, contenant des lysines actives vis-à-vis de telles ou telles cellules, en contiennent, habituellement, d'actives vis-à-vis des albuminoïdes dérivés de ces cellules, etc..., *comme dans le cas des coagulines*. Aussi, un sérum cytolytique se montrera-t-il apte à libérer le poison vrai de l'albuminoïde correspondant : le sérum de lapin traité par les hématies de chien ou de bœuf, qui engendre *in vitro*, aux dépens de ces hématies, un poison mortel pour le lapin, se comporte absolument de même à l'égard du liquide de laquage des globules (Batelli). — Du reste, on sait que l'immunité et l'hypersensibilité « actives » vis-à-vis des cellules se réalisent couramment en traitant les animaux avec les dérivés cellulaires; l'imm. et l'hypers. « actives » vis-à-vis des albuminoïdes, en traitant les animaux avec les « cellules-mères ». De même, pour l'imm. et l'hypers. « passives ». Rappelons, à propos de cette dernière, que, dans l'expérience de Bail, les cobayes auxquels on administre, par la voie péritonéale, des bacilles de Koch ou de la tuberculine, fournissent des exsudats actifs, *in vivo*, sur les bacilles et la tuberculine.

II

Occupons-nous, maintenant, des différences qui séparent *actuellement, à nos yeux*, les « toxines solubles » des « endotoxines »; nous étudierons ensuite les points communs qui les rapprochent.]

Les « *toxines solubles* » sont très coagulables ; d'où leur labilité sous l'influence de certains agents et leur aptitude à produire des coagulines (suivant ce qui a été dit dans le travail précédent) — inversement, elles ne sont attaquables, chez les sujets neufs, qu'après un temps d'incubation bien connu — elles représentent des corps à grosses molécules, dialysant généralement fort mal ou même point du tout — elles agissent à doses très faibles, ce qui (joint à leur pouvoir éminemment coagulogène) explique la « force » caractéristique des sérums antitoxiques — elles possèdent une spécificité étroite qui se retrouve dans les anticorps qu'elles engendrent — enfin, elles sont douées d'affinité non seulement vis-à-vis du système formateur des anticorps, mais encore vis-à-vis des « cellules nobles », ainsi qu'il a été antérieurement mentionné. Il convient de continuer à considérer les « *toxines solubles* » comme de véritables sécrétions.

Les « *endotoxines* » sont moins coagulables que les « *toxines solubles* » (quelquefois même très peu) ; d'où leur stabilité sous l'influence de certains agents — inversement, elles sont bien plus sensibles aux lysines ; d'où leur aptitude à engendrer ces dernières ; d'où, également, la mort rapide des sujets neufs qui reçoivent des « *endotoxines toxiques* » — elles représentent des corps à molécules plus petites que celles des tox. sol. et dialysant relativement assez bien (expériences de de Waele) — elles agissent à doses toujours appréciables, ce qui (joint à leur pouvoir éminemment lysogène et, partant, peu coagulogène) explique la « faiblesse » caractéristique des sérums antientotoxiques — elles possèdent une spécificité moins étroite que celle des tox. sol. et les anticorps qu'elles engendrent reflètent cette imperfection relative — enfin, elles ne sont guère douées d'affinité que pour le système formateur des anticorps, ce qui ne les empêche point d'offrir, parfois, une *électivité* très nette — l'un de nous n'a-t-il pas établi, avec Frouin, que le b. morveux, même « dissous » par la pipéridine, conserve la faculté de déterminer les lésions typiques de la vaginale chez le cobaye mâle ? Il convient de considérer les « *endotoxines* » comme « l'essence même de la substance des cellules » (laquelle se retrouve dans les humeurs, extraits cellulaires et filtrats microbiens).

Pour nous, les *endotoxines* sont formées d'un *élément* non toxique, *spécifique* et antigène ¹ — et d'un *élément toxique*, banal et non antigène. C'est ce qui résulte des recherches de Vaughan et des nôtres. Le « résidu » et le « poison » du savant américain ne représentent point, avons-nous dit, les deux constituants des endotoxines dans leur intégrité réelle; loin de là, mais ils en ont conservé à coup sûr les propriétés fondamentales.

Les poisons vrais des diverses endotoxines sont certainement très voisins les uns des autres, à en juger par l'identité absolue des symptômes qu'ils déterminent, lorsqu'une décoagulation brutale vient à les libérer rapidement, c'est-à-dire quand l'*élément spécifique* s'efface devant l'*élément toxique*. Il en va tout autrement dans le cas d'une décoagulation ménagée et la grande variété des signes cliniques observés révèle la dominance de l'*élément spécifique*, porteur d'une *électivité* et d'une « *solubilité* » très variables, selon le poison brut administré. Inutile d'ajouter que la symptomatologie se complique à l'infini, quand il s'agit d'« endotoxines vivantes » (microbes pathogènes), c'est-à-dire lorsqu'intervient le facteur « adaptation de l'antigène ».

Nous admettons que les « *toxines solubles* » comportent aussi un *élément spécifique* et un *élément toxique*, parce que toute leur histoire impose cette conclusion. La nature des poisons vrais varie peu également d'une toxine à l'autre, comme le démontre l'identité des phénomènes, dans les cas de mort rapide (animaux hypersensibles); au contraire, la haute spécificité des toxines, observée dans les circonstances ordinaires (animaux neufs), suffit à établir la diversité de leurs constituants antigènes. [Courmont et Doyon avaient jadis parlé de poison vrai, lors de leurs études sur la toxine tétanique; mais, d'après ces auteurs, celui-ci serait engendré, aux dépens de l'organisme, par la toxine agissant comme ferment — opinion diamétralement opposée à la nôtre.

L'analogie des symptômes que détermine la *décoagulation brusque de tous les antigènes*, quels qu'ils soient, conduit, en fin de compte, à supposer que les poisons vrais des endotoxines et ceux des toxines solubles pourraient bien n'être pas très éloignés les uns des autres.

1. C'est donc contre lui *seul* que sera dirigé l'anticorps correspondant.

A côté des toxines solubles « classiques » et des endotoxines « classiques » (antigènes) se rencontrent un certain nombre de *poisons* encore *mal déterminés* ; il conviendra de voir s'ils représentent des types intermédiaires ou des corps d'un genre nouveau. Il conviendra, également, de reprendre l'étude de beaucoup de liquides et de cellules, au point de vue de la coexistence des toxines et des endotoxines et de la multiplicité, soit des unes *ou* des autres, soit des unes *et* des autres.

Enfin, parmi les antigènes qui n'appartiennent sûrement point au groupe des toxines ni à celui des endotoxines rappelés, pour terminer, la grande famille des *enzymes* dont quelques membres peuvent exercer, *in vivo*, une influence des plus néfastes, qui les place, sans contredit, au rang des pires agents nuisibles.

Paris, août 1907.

Nouvelles recherches sur la toxine et l'antitoxine cholériques

PAR LE D^r A. SALIMBENI

(Travail du laboratoire de M. Roux.)

On ne discute plus à l'heure actuelle l'existence d'un poison soluble dans les cultures en milieu liquide du vibrion cholérique.

Ramson¹ le premier, sans d'ailleurs donner aucun détail sur la manière de le préparer, le décrivit en 1895, et il annonça en même temps qu'en accoutumant peu à peu les animaux à l'action de ce poison il avait obtenu un sérum antitoxique.

M. Pfeiffer², qui, dès 1892, avait nié l'existence d'une toxine cholérique soluble et qui, d'accord avec M. Gamaleia³, plaçait le véritable poison cholérique dans le corps des vibrions d'où il ne sortirait qu'à la mort de ceux-ci, s'éleva contre les affirmations de M. Ramson. Pour M. Pfeiffer, la toxine de M. Ramson n'était point la vraie toxine cholérique, mais sans doute une modification de celle-ci. Quant aux propriétés antitoxiques du sérum, il ne les croyait pas supérieures à celles du sérum normal provenant de divers animaux. Notre premier mémoire, en collaboration avec MM. Roux et Metchnikoff⁴, dans lequel nous donnions tous les détails de la méthode qui nous avait permis de préparer la toxine cholérique et d'obtenir un sérum antitoxique, parut quelques mois après.

Sans prendre parti en faveur de l'une ou de l'autre des opinions à cette époque et aujourd'hui même en présence, nous affirmions cependant que la production de ce poison, résistant à la température de l'ébullition et à effet très rapide chez les animaux sensibles, devait être considérée comme intimement liée au pouvoir toxigène du microbe d'une part, et d'autre part au milieu de culture et aux conditions spéciales dans lesquelles la culture est faite.

Le sérum des animaux qui ont reçu de la toxine cholérique, disions-nous, fournit un sérum dont le pouvoir antitoxique

1. *Deutsche med. Wochenschrift*, 1895, n° 5.

2. *Zeitschrift f. Hygiene*, 1895, Vol. 20. *Deutsch med. Wochenschrift* 1896, n°s 7-8.

3. *Arch. de méd. expérimentale*, 1892.

4. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896, n° 5.

spécifique est d'autant plus actif que l'immunisation a été poussée plus loin.

Le pouvoir antitoxique du sérum de notre cheval, le mieux immunisé en 1896, était à vrai dire plutôt faible; il en fallait 1 c. c. pour protéger un cobaye vis-à-vis d'une injection de 4 doses mortelles de toxine. Et cependant ce même sérum se montra très efficace à titre préventif et donna, comme curatif, de très bons résultats dans le choléra intestinal des jeunes lapins provoqué expérimentalement d'après la méthode de M. Metchnikoff.

Le sérum normal, au contraire, affirmions-nous plus loin, ne possède pas de propriétés antitoxiques appréciables vis-à-vis de la toxine cholérique.

Comme M. Pfeiffer autrefois, M. Kraus¹ dans ses recherches sur la toxine du vibron de Nasik², et plus tard ce même auteur en collaboration avec M. Pribram³, dans leurs recherches sur la toxine des 6 vibrions d'El-Tor, ont reconnu au sérum normal (chèvre, lapin, cheval) un pouvoir antitoxique qui ne diffère de celui des animaux vaccinés que par le temps nécessaire à la neutralisation de la toxine. Il faudrait, en effet, d'après ces auteurs, de 20 minutes à une 1/2 heure de contact *in vitro* pour que le sérum neuf neutralise une quantité de toxine qui serait neutralisée en 5 minutes par la même dose d'un sérum préparé.

Voici résumé en quelques mots tout ce que, dès nos premières expériences, nous avons observé à ce sujet.

Lorsqu'on injecte à des animaux sensibles (cobaye) une dose minima mortelle de toxine mélangée à son volume ou à deux volumes de sérum normal, on voit fréquemment les animaux ainsi traités se rétablir complètement, après avoir toutefois présenté les phénomènes, toujours plus ou moins graves, qui caractérisent l'intoxication cholérique expérimentale. Parfois

1. *Centralbl. f. Bakt.* Vol. 34, n° 6.

2. Ce vibron a été isolé par M. Simond à Nasik (Indes anglaises) d'un cas typique de choléra. M. Kraus, cependant, ne le considère pas comme un vrai cholérique parce que, en présence du sérum spécifique, il n'est pas agglutiné au même titre qu'un cholérique authentique; son sérum n'agglutine que très peu les vrais cholériques, et enfin cultivé en milieu liquide, donne une hémolysine et un poison soluble à effet rapide, ce qui, d'après Kraus, n'existe jamais dans les cultures de vrai cholérique. Nous verrons dans la suite qu'il a changé d'avis pour ce qui concerne le pouvoir toxigène de vibrions cholériques authentiques.

3. *Wien. Klinisch. Wochenschrift*, 1905, n° 39.

aussi, des animaux ayant reçu sous la peau ou dans le péritoine 2-3 c. c. de sérum neuf résistent 24-48 après à l'injection d'une dose minima mortelle de toxine. Mais, si au lieu de la dose minima, nous en prenons deux ou même une et demie, nous pouvons augmenter en proportion et davantage la quantité de sérum neuf : cela n'empêchera pas les animaux de périr sans exception.

Pouvait-on parler dans de pareilles conditions d'un pouvoir antitoxique du sérum neuf? Nous ne le pensions et nous ne le pensons pas. Il est de toute évidence que la résistance individuelle des animaux joue un rôle non négligeable toutes les fois que, pour n'importe quel poison, microbien ou autre, nous opérons aux environs de la dose minima mortelle. On pourrait tout au plus admettre que la résistance d'un animal peut être jusqu'à un certain point renforcée par le sérum neuf; mais de là à conclure à un pouvoir antitoxique il y a une barrière que nous ne saurions franchir.

Il nous reste, pour compléter ce bref résumé historique, à dire quelques mots sur les travaux de M. Kraus et de MM. Brau et Denier. MM. Brau et Denier en adoptant notre technique (cultures en couche mince et large surface, vibrions n'ayant jamais fait de passages par les animaux comme matériel d'ensemencement) ont obtenu, sur un milieu spécial, une très bonne toxine cholérique, qui répond d'ailleurs aux caractères de celle décrite par nous. Le milieu préconisé par MM. Brau et Denier n'est autre que du sérum de cheval additionné de 10 0/0 de sang de cheval défibriné; les deux âgés de trois semaines.

Au moment de s'en servir, on chauffe le mélange à 60° pendant trois heures, on ensemence largement, et on filtre après 7 jours d'étuve à 38°. En se basant sur les propriétés de la toxine ainsi obtenue et sur le fait que la toxicité du liquide augmente jusqu'au 7^e jour, tandis que, à partir du 4^e il n'y a plus de microbes vivants dans leurs cultures, les auteurs concluent que la production de cette toxine semble liée à la macération des vibrions.

Quant à M. Kraus¹, il a tout d'abord contesté tout pouvoir toxigène aux vibrions cholériques vrais.

Bien plus, en se basant sur le fait que le vibrion de Nasik

1. *Loc. cit.*

(qu'il ne reconnaît pas comme cholérique). donne, en milieu liquide, un poison très actif, il en avait conclu que tout vibron donnant un poison soluble ne devait pas être considéré comme un vrai cholérique.

Plus tard, en opérant avec des vibrions authentiques isolés en Indo-Chine par M. Brau et que nous avons mis à sa disposition, il a pu se convaincre que les vrais cholériques donnent aussi un poison soluble¹.

Préparation de la toxine cholérique.

Nous avons apporté bien peu de modifications à la méthode que nous décrivions en 1896 pour la préparation de la toxine cholérique.

La proportion de sérum de cheval à ajouter à la solution gélatine-peptone a été portée de 10 à 25 0/0; les boîtes de Pétri, mal commodes et sujettes à de nombreuses causes de contamination, ont été remplacées par les flacons-boîtes Roux, dont le modèle fut conçu pour la préparation de la toxine cholérique. Le milieu, une fois réparti dans les boîtes dans la proportion de 50 c. c. par boîte, est chauffé pendant 3 heures à 60°, puis largementensemencé.

Comme peptone, nous employons toujours la solution obtenue d'après la méthode Martin², par la digestion de 200 grammes d'estomac de porc dans 1 litre d'eau additionnée de 10 c. c. d'acide chlorhydrique pur. La peptone ainsi préparée donne des résultats plus constants que les peptones qu'on trouve dans le commerce et dont la composition est si variable.

Le degré d'alcalinité du milieu joue aussi un rôle très important dans la production de la toxine cholérique.

De nombreuses recherches comparatives nous ont montré que l'*optimum*, comme alcalinité, est obtenu en ajoutant à la solution gélatine-peptone neutre au tournesol, 12 c. c. de soude normale par litre.

Le vibron dont nous disposions en 1895 avait été isolé à Hambourg et provenait de l'épidémie qui avait sévi en Prusse en 1894.

1. *Handbuch der Technik und Method. der Immunitätsforschung*, LEVADITI et KRAUS, 1907, p. 177-178 et suiv.

2. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1898, n° 1.

En travaillant avec ce vibron, M. X... s'infecta et eut une légère attaque de choléra. Plus tard, en 1895, au cours de nos recherches, ce même vibron provenant du cas de M. X... détermina accidentellement, chez nous, une infection cholérique des plus caractéristiques. Isolé de nos déjections et identifié avec le vibron de M. X... par M. Metchnikoff, il existe encore dans notre collection où il est catalogué sous la dénomination de vibron de la Prusse orientale.

Ce n'est certainement pas en vue de son importance anecdotique que nous avons tenu à détailler l'état civil de ce vibron.

Nous nous y sommes décidé en vue surtout de répondre à certaine critique que M. Kraus ne manque jamais de nous faire au sujet de la nature cholérique du vibron employé par nous lors de nos premières recherches. Cet auteur, en effet, admet bien que MM. Brau et Denier ont obtenu la toxine cholérique soluble ; il admet aussi que cette toxine ne diffère pas essentiellement de celle décrite par nous ; et cependant, par le fait que nous avons oublié de déclarer que notre vibron avait été caractérisé au moyen de l'agglutination et du phénomène de Pfeiffer, il conclut, après une critique que lui-même reconnaît comme très sévère, qu'on ne peut pas dire que nous ayons eu à faire à la vraie toxine cholérique¹.

Terminons donc cette petite digression en assurant M. Kraus que le vibron de la Prusse orientale donne bien l'agglutination et le phénomène de Pfeiffer avec un sérum spécifique. Ne la donnerait-il pas que les deux infections de laboratoire dont il fut l'agent seraient, à notre avis, plus que suffisantes à établir sa nature cholérigène.

En 1895, au début de nos recherches, la virulence du vibron de la Prusse orientale avait été considérablement renforcée par la méthode classique des passages successifs dans le péritoine de cobayes ; cependant son pouvoir toxigène était vraiment minime.

C'est en le cultivant dans des sacs de collodion introduits dans la cavité péritonéale des cobayes, que nous avons pu très vite renforcer son pouvoir toxigène et l'entretenir.

Dans cette méthode des sacs permettant de cultiver le

1. *Handbuch der Technik und Method. der Immunitätsforschung*, LEVADITI et KRAUS, 1907, p. 477-478.

vibron *in vivo* et à l'abri des cellules de l'organisme, nous avons cru voir un moyen de renforcer et d'entretenir d'une façon générale la toxicité des vibrions cholériques.

De nombreuses recherches comparatives nous ont montré, dans la suite, que cette méthode est tout à fait inutile pour des vibrions provenant directement des déjections cholériques et n'ayant jamais fait de passage par les animaux. Ces vibrions possèdent au maximum leur pouvoir toxigène, qui varie souvent d'un échantillon à l'autre et qui n'est pas toujours en rapport avec la gravité de l'attaque qu'il a déterminé.

Il n'est pas rare, en effet, d'isoler des vibrions très toxiques des cas de choléra tout à fait bénins, tandis que des cas de choléra très graves donnent parfois des vibrions très peu actifs sur nos milieux de culture.

De toute façon, lorsqu'on rencontre un vibron toxique provenant directement d'un cholérique, ce qu'il y a de mieux à faire pour lui conserver le plus longtemps possible son pouvoir toxigène, c'est de l'entretenir par de rares passages sur la gélose peptonisée, à la température de la chambre.

C'est en 1898, sur un certain nombre de vibrions isolés dans l'Inde par M. Simond, que nous fîmes cette constatation, que nous avons pu d'autre part contrôler pendant les deux dernières années sur 35 races de vibrions isolés par MM. Brau et Denier en Indo-Chine (1903-1904-1905) et par M. Denier à Manille (1906).

La méthode des sacs garde cependant toute sa valeur pour remonter, comme toxicité, un vibron dont le pouvoir toxigène serait affaibli par des passages chez les animaux; les résultats sont moins bons quand ils s'agit de vibrions affaiblis par un long séjour sur les milieux artificiels de cultures.

Le vibron dont nous nous servons en ce moment vient de Manille, où il a été isolé par M. Denier en 1906. Il est catalogué dans notre collection sous la dénomination: *Manille n° 13, 1906*. Il est un des plus toxiques que nous ayons jamais rencontré.

Sur notre milieu, dont nous avons donné plus haut la formule, ou sur le milieu de Brau et Denier, largementensemencés avec des cultures sur géloses jeunes de 16-18 heures, il donne assez régulièrement, au bout de 7 jours d'étuve à 38°, une toxine qui tue un cobaye de 200 grammes à la dose de 2/3 de c. c.

Entre la toxine obtenue sur le milieu de Brau et Denier et

celle obtenue sur le nôtre, il n'y a pas de différences appréciables.

Le maximum de toxicité dans les deux cas est atteint vers le 7^e jour : les deux produits résistent à la température de l'ébullition, sont précipités par l'alcool fort et le sulfate d'ammoniaque, dialysent à travers une membrane de collodion et déterminent, chez les animaux sensibles à des doses comparables, les mêmes symptômes toxiques. Seul chez le lapin, en injection intraveineuse, la toxine de Brau et Denier s'est montrée plus active que la nôtre. D'autre part, les animaux vaccinés vis-à-vis de l'une de ces toxines le sont aussi pour l'autre, et la même réprocité existe pour les sérums antitoxiques respectifs.

Le rendement toxique sur le milieu de Brau et Denier est plus constant. C'est le seul avantage qu'on peut lui reconnaître, et cela tient très probablement à ce que la composition de leur milieu (sérum et sang défibriné) n'est pas sujette aux petites variations inévitables dans la préparation des solutions artificielles.

Toxicité de corps des vibrions. — Endotoxine cholérique.

Les corps de vibrions cholériques sont toxiques. 8-10 milligrammes de corps humides provenant d'une culture sur gélose de 18 heures, tués par les vapeurs de chloroforme ou par un chauffage à 65° pendant 1 heure, tuent un cobaye de 250 grammes avec les symptômes caractéristiques de l'intoxication cholérique.

C'est encore à M. Pfeiffer ¹ que nous devons la série de recherches la plus complète à ce sujet.

D'après cet auteur, l'action toxique des vibrions est due à un poison contenu dans les corps mêmes des microbes et qui doit très vraisemblablement exister comme un des éléments constituant le protoplasma bactérien. Ce poison, qu'il appelle *primaire*, se transformerait, par l'action de l'alcool fort, de l'ébullition ou d'un chauffage prolongé à 60°, en un poison *secondaire* beaucoup moins actif. Les faits avancés par M. Pfeiffer sont tout à fait exacts. L'alcool, l'ébullition, le chauffage prolongé à 60° diminuent le pouvoir toxique des corps de vibrions. Il reste à savoir si et jusqu'à quel point l'explication donnée par M. Pfeiffer est exacte.

1. *Loc cit.*

Peut-on extraire et avoir en solution dans l'eau le poison cholérique renfermé dans les corps de vibrions?

Les différentes méthodes qui ont donné de si bons résultats pour la préparation des endotoxines typhiques, pesteuses et dysentériques, appliquées au vibron cholérique, n'ont pas donné de résultats bien satisfaisants. Strong ¹, par la simple macération dans l'eau de vibrions provenant de cultures sur géloses âgées de 20 heures, (de 1 à 24 heures à 60°, puis 2-5 jours à 37°), a obtenu par filtration un liquide dont 2-3 c. c. en injection intraveineuse tuent un lapin de 1,500 grammes.

Nous avons obtenu de meilleurs résultats en modifiant la méthode de M. Strong. Voici notre procédé. Les vibrions provenant des cultures sur gélose âgées de 18 heures sont mis en suspension dans de l'eau salée faible légèrement alcalinisée (0,25 0/0 de chlorure de sodium et 0,10 0/0 de carbonate de soude) et placés à l'étuve à 38° dans des tubes aussi remplis que possible et fermés à la lampe. Au bout de 24 heures, on les chauffe 1 heure à 60° et on les abandonne à la température du laboratoire, à l'abri de la lumière, jusqu'à ce que la plupart des microbes soient tombés au fond.

A ce moment, il faut en général 6-8 jours, on aspire le liquide qui surnage, légèrement louche et sirupeux, et on le centrifuge pour l'obtenir tout à fait clair.

Ce liquide est toxique et sa toxicité n'est pas modifiée, comme celle des corps de vibrions étudiée par M. Pfeiffer, par l'ébullition ou par un chauffage prolongé à 60°. L'action de l'alcool n'a pas été étudiée.

La toxicité du liquide varie naturellement avec la quantité d'eau dans laquelle les microbes ont été mis en suspension.

Si l'on reprend, avec 15 c. c. d'eau, la totalité des microbes développés à la surface de la gélose d'une boîte Roux, 1 c. c. du liquide ainsi obtenu tue en moyenne un cobaye de 200-250 par injection péritonéale; il en faut à peu près le double pour tuer un cobaye de la même taille sous la peau et un lapin de 2 kilos par injection intraveineuse.

Nous n'avons malheureusement pas pu pousser bien loin l'étude de ce poison, car il est extrêmement difficile d'accoutumer les animaux à son action.

1. *Protective inoculation against asiatic Cholera*, Manille, 1904, p. 29-30.

Les cobayes traités avec beaucoup de ménagements peuvent arriver à supporter 2 fois ou 2 fois et $1/2$ la dose mortelle; mais la plupart du temps ils se cachectisent et meurent dans le marasme.

Le sérum de ceux qui résistent est très agglutinant, mais absolument nul comme pouvoir antitoxique vis-à-vis de deux doses mortelles de la toxine des corps de microbe et de la toxine soluble.

Les cobayes vaccinés vis-à-vis de l'endotoxine peuvent cependant arriver à supporter 2 doses de toxine soluble, à condition d'attendre 12-15 jours, après la dernière injection vaccinale.

Chez les lapins la vaccination peut être poussée un peu plus loin. Nous avons eu des lapins qui supportaient, en injection intraveineuse, 6 c. c. d'un liquide qui tuait un lapin neuf à la dose de 1 c. c. $1/2$. Et cependant le pouvoir antitoxique du sérum de ces lapins était pour ainsi dire inappréciable.

Les chèvres ont une sensibilité toute spéciale vis-à-vis de ce poison, surtout s'il est donné par injection intraveineuse.

Une première chèvre succombait dix minutes après avoir reçu dans la veine 1 c. c. d'un liquide dont la dose mortelle pour un lapin était égale à 2 c. c.

Une deuxième chèvre, après 3 mois de traitement (elle avait reçu, en 9 injections, des doses progressivement croissantes 11 c. c. $1/2$ de liquide toxique), a été tuée en une demi-heure par 2 c. c. $1/2$ dilué dans 7 c. c. $1/2$ d'eau physiologique stérile. La dilution dans l'eau physiologique nous semblait indiquée à cause de la consistance légèrement sirupeuse du liquide.

Une troisième chèvre, après en avoir reçu en 4 mois 36 c. c. sous la peau, succomba très vite à la suite d'une injection intraveineuse de 2 c. c. de cette même toxine.

Nous ne nous expliquons pas la mort si rapide de ces chèvres; nous n'oserions certes pas la mettre exclusivement sur le compte de la toxine obtenue par macération des corps de vibrions.

Immunisation des chevaux. Sérum antitoxique.

C'est aux grands animaux et de préférence au cheval qu'il faut s'adresser pour préparer un sérum antitoxique.

Même vis-à-vis de la toxine soluble, il est en effet très difficile de vacciner les petits animaux, et, d'autre part, le pouvoir antitoxique de leur sérum est toujours très faible.

Lors de nos premières recherches et jusqu'à la publication de notre mémoire de 1896, nos chevaux avaient toujours reçu les injections vaccinales dans le tissu sous-cutané.

Sur un de ces chevaux, celui qui donnait le sérum le plus faible, nous essayâmes plus tard les injections intraveineuses, et nous constatâmes qu'en très peu de temps le pouvoir antitoxique de son sérum avait considérablement augmenté.

Il fallait 1 c. c. $1/2$ du sérum de ce cheval, qui avait reçu sous la peau 1,230 c. c. de toxine en 11 mois, pour neutraliser 4 doses mortelles de toxine. Deux mois après, n'ayant reçu que 185 c. c. de toxine dans les veines, $1/3$ c. c. du sérum de ce même cheval neutralisait 4 doses et 0 c. c. 08 deux doses mortelles de toxine.

Peu après ce cheval mourut d'une maladie intercurrente.

Depuis, nous avons vacciné deux génisses, les deux par des injections intraveineuses dès le début. Les bovidés supportent évidemment mieux que les chevaux la toxine cholérique et nous avons pu, en peu de temps, arriver à leur injecter des doses de toxine que nous n'avions jamais pu atteindre avec les chevaux.

En 8 mois de traitement une de nos génisses, qui avait reçu près de 1,400 c. c. de toxine, donnait un sérum dont 0 c. c. 015 neutralisait deux doses mortelles de toxine. Malgré ce résultat véritablement très engageant, nous avons renoncé à la vaccination des bovidés. Ces animaux ne se prêtent pas aussi bien que les chevaux aux petites opérations que nécessitent les injections et les saignées; de plus leur sang donne peu de sérum qui est d'autre part en lui-même toxique, et par conséquent peu convenable pour le traitement sérothérapique appliqué à l'homme.

Nous avons donc repris la vaccination des chevaux et depuis 19 mois, 9 chevaux ont été mis en traitement. Tous ont été traités dès le début par la voie intraveineuse : 4 sont morts en cours de vaccination, 2 de maladies intercurrentes, 1 de néphrite et le quatrième quelques heures après une injection vaccinale de 7 c. c. de toxine.

Des 5 qui nous restent, 4 reçoivent de la toxine soluble et le cinquième des vibriions vivants provenant des cultures sur

gélose de 18 heures, mis en suspension dans l'eau physiologique stérile.

Les 4 traités par la toxine en ont reçu, à l'heure actuelle, de un litre et demi à deux litres et demi.

Comme dose vaccinale maxima, nous n'avons jamais pu dépasser 65 c. c.; les troubles occasionnés par une telle dose ont toujours mis l'existence de l'animal en grave danger. Une dose de 50 c. c. est au contraire très bien supportée; la réaction vaccinale, caractérisée par une élévation de la température (2° ou 2° 1/2 en moyenne) atteint son maximum vers la 7^e heure et, le lendemain, les animaux sont en général complètement rétablis.

Les injections vaccinales peuvent être répétées tous les 8 à 10 jours.

On saigne une première fois 12 jours et une deuxième fois 16 jours après la dernière injection.

Les sérums de la première et de la deuxième saignée sont, comme pouvoir antitoxique, parfaitement comparables.

Autrefois, il y a de cela près de dix ans, nous avons vacciné un cheval par des injections intrapéritonéales de vibrions vivants et virulents. En 16 mois, ce cheval avait reçu près de 600 cultures sur gélose de vibrions de la Prusse orientale. Son sérum agglutinant au 1/50,000 de c. c. et préventif à la dose de 1/20 de milligramme, était à peu près nul comme pouvoir antitoxique : il en fallait 1 c. c. 1/2 pour neutraliser 2 doses mortelles de toxine.

Dès 1896, à propos de la peste, M. Roux, le premier, avait constaté que le sérum des chevaux vaccinés par des injections intraveineuses de microbes vivants était manifestement antitoxique. Plus tard, MM. Vaillard et Dopter¹ firent la même constatation sur le sérum antidysentérique. Encouragés par ces résultats, nous avons appliqué ce même procédé en vue d'obtenir un sérum antitoxique pour le choléra.

Le cheval que nous avons actuellement en vaccination donna assez vite un sérum antitoxique relativement très actif. En 7 mois et lorsqu'il n'avait reçu que 27 cultures sur gélose dans les veines, il donnait un sérum dont 0 c. c. 05 neutralisait 2 doses mortelles de toxine; il était en même temps agglutinant

1. VAILLARD et DOPTEY, *Annales de l'Institut, Pasteur* 1896, n° 5.

au 1/10.000 de c. c. et préventif vis-à-vis de la péritonite vibrionienne à la dose de 0 c. c. 0002. Depuis, le pouvoir antitoxique de son sérum n'a pas augmenté en proportion.

Lors de notre dernier essai et alors qu'il avait reçu 134 cultures sur gélose, la quantité de sérum nécessaire pour neutraliser 2 doses de toxine était égale à 0 c. c. 002 : il était par contre agglutinant au 1/23,000 et 0 c. c. 0001 prévenait la péritonite vibrionienne.

Il faut dire aussi que les injections intraveineuses des vibrions vivants sont supportées par le cheval beaucoup moins bien que les injections intrapéritonéales. Ainsi, nous n'avons jamais pu donner plus de trois cultures à la fois dans les veines, tandis que dans le péritoine nous étions arrivé à donner 20 cultures à la fois.

Le cheval ainsi traité fut tué en 3 1/2 heures environ, par une injection intrapéritonéale de 21 cultures. — Chose remarquable : à l'autopsie pratiquée immédiatement après la mort, le liquide péritonéal, le sang du cœur et le suc des organes ensemencés sur gélose ne donnèrent pas une seule colonie de vibrions.

Dosage de l'activité du sérum anticholérique.

En aucune façon la méthode préconisée par M. Erlich pour le dosage du sérum antidiphthérique ne peut être appliquée à la détermination de l'activité du sérum anticholérique. La faiblesse de la toxine et de l'antitoxine, les bases toxiques qui se trouvent dans le liquide à côté de la toxine et qui peuvent à elles seules, lorsqu'on dépasse une certaine dose, tuer l'animal, s'opposent à l'application de cette méthode.

Autrefois, nous faisons nos dosages de la façon suivante : à une quantité donnée de sérum nous ajoutons des quantités progressivement croissantes de toxine, dont nous avons au préalable déterminé la dose minima mortelle, et nous injectons le tout sous la peau des cobayes. D'après les résultats, nous disions 1 c. c. de sérum par ex. protège contre n doses mortelles. Nous dépassions rarement 4 doses mortelles. La méthode était évidemment très simple, mais les résultats loin d'être constants et satisfaisants.

En effet, en faisant agir sur des toxines d'activité différente

une quantité, toujours la même, d'un même sérum, nous finîmes bientôt par nous apercevoir que dans de telles conditions le pouvoir antitoxique du sérum se modifiait, pour ainsi dire, en raison directe de l'activité de la toxine et, dans certaines limites, en raison inverse de la quantité du liquide toxique employé.

Cette expression, que par commodité de description nous empruntons aux sciences exactes, ne doit, bien entendu, pas être prise à la lettre. Il nous arrivait par exemple de constater que 1 c. c. d'un sérum qui neutralisait 4 doses d'une toxine dont la dose mortelle pour un cobaye était égale à 1 c. c., pouvait en neutraliser 5 et 6 d'une toxine tuant au $\frac{2}{3}$ de c. c. et pas plus de 2-3 d'une toxine ne tuant qu'à la dose de 2 c. c.

Nous avons constaté en outre que, pour une toxine de n'importe quelle activité, il fallait *en proportion* beaucoup plus de sérum pour neutraliser 4 doses mortelles que pour en neutraliser 2. Ceci bien entendu en prenant l'animal comme réactif. Un exemple, d'ailleurs, parlera mieux à l'esprit.

Prenons un sérum dont 0.5 c.c. neutralisent et rendent inoffensives pour le cobaye deux doses mortelles de toxine : mélangeons 1 c. c. de ce sérum à 40 doses de toxine : le cobaye supportera 2 c. c. de ce mélange, mais 3 et à plus forte raison 4 c. c. le feront périr. Pour 3, pour 4 doses, 0 c. c. 075 et 0 c. c. 10 de sérum ne suffisaient pas ; il en fallait 0 c. c. 20, et 0 c. c. 35 : ce sont là des chiffres que nous empruntons à notre cahier d'expériences.

Pour avoir des résultats constants et toujours autant que possible comparables, voici la méthode que nous avons définitivement adoptée pour le dosage du sérum anticholérique.

Nous faisons toujours nos essais avec une toxine filtrée au 7^e jour et dont 1 c. c. en injection sous-cutanée, représente la dose minima mortelle en 12-18 heures, pour des cobayes de 250 grammes. Nous avons donné la préférence à une toxine tuant au centimètre cube, car c'est la toxine de force moyenne la plus facile à obtenir.

A deux doses mortelles de toxine, soit 2 c. c., nous ajoutons des quantités variables et progressivement décroissantes de sérum. Après 10 minutes de contact *in vitro* les différents mélanges sont injectés sous la peau des cobayes. Pour chaque série

4 cobayes servent de témoins : 2 reçoivent sous la peau une dose minima mortelle et les deux autres le double.

Par conséquent, quand nous disons, par exemple, que tel sérum tient à 0 c. c. 15, cela veut dire que 0 c. c. 15 neutralisent, après 10 minutes de contact *in vitro*, deux doses mortelles d'une toxine dont la dose minima mortelle en injection sous-cutanée pour un cobaye de 250 grammes est égale à 1 c. c.

Lors de nos derniers essais, nos meilleurs sérums tenaient à 1 c. c. 015; les plus faibles à 0 c. c. 35.

Sur la nature de la toxine cholérique.

Nos connaissances sur le déterminisme de la production de la toxine cholérique, telle que nous l'obtenons dans nos milieux de culture, sont tout à fait incomplètes et nous connaissons d'autre part très peu de chose sur la nature même de ce poison.

S'agit-il, comme le pense M. Ramson¹, d'un poison soluble et diffusible secrété par le microbe de son vivant; ou bien, suivant la conception de M. Pfeiffer², d'un produit toxique résultant d'une modification de la vraie toxine cholérique renfermée dans les corps de vibrions?

MM. Brau et Denier³ déclarent tout simplement que *la production de la toxine cholérique semble liée à la macération des vibrions*, et, contrairement à l'opinion de M. Pfeiffer, ils pensent qu'il n'y a pas lieu d'établir de distinction entre la toxine cholérique contenue dans les corps de microbes et celle obtenue dans les liquides de culture.

Pour M. Kraus enfin, du moment que la toxine soluble donne une antitoxine, elle doit être considérée comme une vraie toxine.

La question est évidemment très complexe et pleine de difficultés.

Dans plusieurs séries de recherches, nous avons étudié les variations de la toxicité des produits d'âge différent; l'action de la chaleur et du vieillissement à l'air et à la lumière sur ces mêmes produits; leur neutralisation par le sérum dans ces différentes conditions. Ces recherches nous ont permis de cons-

1. *Loc. cit.*

2. *Loc. cit.*

3. *Loc. cit.*

4. *Loc. cit.*

tater un certain nombre de faits dont la connaissance, croyons-nous, pourra être utile à tous ceux qui s'intéressent à l'étude du choléra.

Les voici brièvement résumés. Inutile de dire encore une fois que les chiffres que nous donnons, sont empruntés à notre cahier d'expériences.

Un flacon gradué renfermant 500 c. c. du milieu gélatine-peptone sérum de cheval, chauffé 3 heures à 60°, est largement ensemencé avec la totalité de vibrions provenant de deux cultures sur gélose en boîtes Roux âgées de 18 heures. Le liquide est réparti aussitôt après dans 10 boîtes stériles à raison de 50 c. c. par boîte et placé à l'étuve à 38°.

Au bout de 3 jours, on filtre 3 boîtes, sur papier d'abord, sur un filtre Berkfeld ensuite.

Le filtrat est déjà suffisamment toxique : 2 c. c., en injection, sous-cutanée tuent un cobaye de 250 grammes en 12 à 14 heures environ.

Chauffé pendant 5 minutes à la température de l'ébullition, dans des tubes aussi remplis que possible et fermés à la lampe, ce liquide garde toute son activité.

Un chauffage à 60° pendant 24 heures, un séjour de 15 jours environ à la température de la chambre à l'air et à la lumière, ou bien de 8 à 10 jours à l'étuve à 38° le rendent au contraire complètement inactif. Nous avons pu en injecter jusqu'à 6 c. c. sous la peau ou dans le péritoine de cobayes (210 à 240 grammes) sans que ces animaux aient présenté des troubles toxiques appréciables.

Un sérum, dont l'activité dosée vis-à-vis d'une toxine de 7 jours était égal à 0 c. c. 025, a neutralisé dans les mêmes proportions la toxine de 3 jours avant et après le chauffage à 100°.

3 des 7 boîtes qui restent sont filtrées après 7 jours d'étuve à 38°.

La toxicité du filtrat a plus que doublé ; 2/3 de c. c. tuent le cobaye en 12 à 18 heures.

Le chauffage à 100° pendant 5 minutes n'atténue pas la toxine de 7 jours. Sa toxicité est au contraire considérablement diminuée (et à peu près dans les mêmes proportions) par un chauffage à 60° pendant 24 heures, par la température de

l'étuve à 38° en 10 à 12 jours et par le vieillissement à la température ordinaire, à l'air et à la lumière en 18 à 25 jours.

Il faudra non plus $2/3$ de c. c., mais $1\ 1/2$ et 2 c. c. pour tuer des cobayes de même poids.

La quantité de sérum antitoxique capable de neutraliser 2 doses mortelles de toxine au 7^e jour avant et après le chauffage à 100° ne varie pas; elle est toujours égale à 0 c. c. 025.

Il faudra au contraire de 0 c. c. 30 à 0 c. c. 50 de ce même sérum pour neutraliser 2 doses de toxine chauffée à 60° pendant 24 heures, restée 8 jours à l'étuve à 38° ou 25° à la température ordinaire à l'air et à la lumière.

Les 4 dernières boîtes de la série sont enfin filtrées après 15 jours d'étuve.

La dose mortelle du filtrat pour un cobaye de 210 à 240 grammes varie entre 2 et $2\ 1/2$ c. c..

Le pouvoir toxique du liquide au 15^e jour a donc beaucoup baissé, surtout en comparaison avec la toxine de 7 jours.

Il est, d'autre part, à peu près comparable à celui de la toxine de 7 jours chauffée 24 heures à 60°, vieillie à la température de l'étuve ou à celle de la chambre à l'air et à la lumière.

La température de l'ébullition, le chauffage à 60° pendant 24 heures et le vieillissement (41 jours) ne déterminent pas un affaiblissement appréciable sur la toxine de 15 jours. Pour neutraliser 2 doses mortelles de cette toxine non chauffée, chauffée ou vieillie, il faut toujours employer des quantités relativement fortes de sérum : 0 c. c. 50 en moyenne.

La toxine obtenue par macération des corps de microbes dans l'eau salée et légèrement alcaline, se comporte comme résistance aux agents physiques et vis-à-vis de la neutralisation par le sérum, comme la toxine de 15 jours et celle de 7 chauffée à 60° pendant 24 heures ou vieillie à l'air et à la lumière.

De l'ensemble de ces expériences résulte donc : que *les caractères, les propriétés biologiques, en un mot la nature de la toxine cholérique telle que nous l'obtenons sur les milieux artificiels change considérablement suivant l'âge des cultures.*

La toxicité du liquide au 3^e jour semble due à un poison relativement fragile et neutralisable par des petites quantités de sérum. Ce même poison se retrouve en plus grande quantité et avec le même caractère dans la toxine de 7 jours; seulement,

dans celle-ci nous trouvons en outre un deuxième poison, moins actif que le premier, mais résistant, au chauffage prolongé à 60°, au vieillissement, et demandant, pour être neutralisé, des quantités relativement beaucoup plus fortes de sérum.

Ce dernier poison existe seul dans la toxine de 15 jours et dans celle obtenue par la macération des corps de microbes.

D'après leurs propriétés, le premier de ces poisons répond mieux aux caractères des vraies toxines; le deuxième trouve au contraire sa place toute indiquée parmi les endotoxines : nous devons peut-être à sa présence de ne pas pouvoir augmenter au delà d'une certaine limite la dose des injections vaccinales.

Quant à leur nature, avons-nous à faire à deux poisons différents ou à un seul et même poison dont les propriétés biologiques varieraient suivant l'état physique dans lequel ce poison peut se trouver dans les cultures d'âges différents ?

Y a-t-il un produit de sécrétion, le premier et le plus fragile, à côté du produit sûrement dû à la destruction des corps de microbes ?

Toute conclusion à ce sujet nous paraît, à l'heure actuelle, prématurée et d'ailleurs, au point de vue pratique, peu importante. A ce point de vue il y aurait une question bien plus importante à résoudre : ce serait de savoir si la toxine que nous obtenons sur nos milieux de culture est la même que celle donnée par le vibrion dans l'intestin de l'homme atteint de choléra et qui détermine les symptômes toxiques toujours graves, parfois foudroyants, qui caractérisent cette maladie.

L'application à l'homme du sérum anticholérique pourra peut-être fournir des renseignements précieux à ce sujet; à moins que, comme cela arrive pour le tétanos, l'intervention sérothérapique soit inefficace à combattre l'intoxication déjà faite dès le début des premiers symptômes de la maladie et peut-être même avant.

Il serait donc de tout intérêt d'essayer de combattre le choléra humain avec les sérums antitoxiques préparés soit avec les produits solubles, soit avec les injections intraveineuses de vibrions vivants. Jusque-là, nous n'avons qu'à attendre.

Recherches sur la Flore intestinale normale des enfants âgés d'un an à cinq ans.

PAR HENRY TISSIER

(Avec les pl. I et II.)

Après avoir étudié les microbes composant la flore intestinale du nourrisson, nous devons maintenant chercher à connaître ceux qui vont pénétrer dans le tube digestif et s'y acclimater, chez l'enfant passant de l'alimentation lactée exclusive à une alimentation plus variée, analogue à celle de l'homme adulte. C'est ordinairement entre un an et 18 mois que commence cette période, dite de sevrage, et c'est ordinairement vers 3 ou 4 ans qu'elle est complètement terminée.

Ces recherches sont plus délicates à conduire chez ces enfants que chez le nourrisson. Il existe, en effet, de nombreuses façons de sevrer les enfants. Dans les campagnes, par exemple, les mères ont l'habitude d'ajouter d'abord aux tétées une petite quantité des aliments communs à toute la famille, la plupart du temps de la soupe grasse, au pain et aux légumes. Puis progressivement, l'enfant ne prend plus le sein ; on ne le nourrit plus qu'avec des soupes auxquelles on ajoute, parfois, un peu de lait de vache. Vers 3 ans, il mange comme les adultes, presque exclusivement du pain, des légumes, des graisses. A côté de ce mode de sevrage certainement très ancien, nous devons placer celui qui se pratique dans les villes ¹. On commence à donner, dès l'éruption des premières dents,

1. Instructions aux mères pour allaiter leurs enfants, élaborées au nom de la commission des crèches de la ville de Paris par le docteur G. Variot, médecin de l'hôpital des Enfants Malades.

des bouillies farineuses claires, semoule, tapioca, farine, puis, un œuf bien frais, à la coque ou délayé dans les potages. A 18 mois, on ajoute du jus de viande de bœuf, du poisson de mer, de la viande blanche hachée, de la purée de pomme de terre au lait, des lentilles, des crèmes, des gâteaux de riz, composant les deux principaux repas et un litre de lait stérilisé en 3 ou 4 fois dans la journée. Vers 3 ou 4 ans, l'enfant prendra, comme ses parents, une alimentation très riche en matière albuminoïdes, œufs, viandes, poissons, fromages, légumes et pain. En dehors de ces deux modes de sevrage si différents, il en existe d'autres qui tiennent à la fois de l'un et de l'autre. On donne aux enfants du lait de vache, des bouillies au lait, mais aussi des soupes aux légumes, des purées de légumes farineux ou verts, des compotes de fruits, des confitures et de temps à autre un œuf dans des entremets. On ne donne de la viande que beaucoup plus tard vers 4 ou 5 ans. Il est évident que toutes ces alimentations différentes influenceront sur la composition de la flore microbienne et que nous devrons suivre sa transformation dans tous ces cas. Pour simplifier notre description nous admettons trois façons d'alimenter les jeunes enfants : un mode d'alimentation surtout végétarienne, un autre où il est surtout donné des matières albuminoïdes animales, et un autre où l'on donne des végétaux accompagnés d'une très petite quantité de lait et d'œuf.

Nous ne devons pas oublier que notre but est de chercher à établir un type de flore normale, comme nous l'avons fait pour le nourrisson ; il ne nous faudra donc comprendre, dans notre description que des microbes intestinaux absolument normaux. Or tout médecin sait, par expérience, combien sont fréquents les troubles digestifs au moment du sevrage et tout bactériologiste sait que les espèces pathogènes subsistent dans l'intestin du malade, longtemps après la cessation des accidents. C'est ainsi que nous avons isolé un microbe pathogène des selles d'un enfant en apparence guéri, pendant les six mois qui ont suivi la disparition des troubles digestifs. Pour éviter cette cause d'erreur qui consisterait à considérer comme normale une espèce anormale, nous n'avons pris, pour nos recherches, que des enfants surveillés depuis leur naissance, en mettant soigneusement de côté tous ceux qui avaient pré-

senté, à un moment quelconque de leur existence, le moindre trouble digestif.

Nous nous sommes servis, pour nos isolements, de la méthode de Veillon et nous avons eu soin d'étudier, autant qu'il nous a été possible, les propriétés biologiques et chimiques de toutes les espèces isolées. Nous n'avons certes pas obtenu toutes les bactéries formant la flore intestinale de ces jeunes enfants; mais nous pensons avoir isolé les principales. Il nous a paru intéressant de chercher à établir le nombre relatif de chacun de ces microbes. Il est, en effet, plus important de connaître les espèces les plus nombreuses, donnant les fermentations dominantes, que certaines espèces rares dont l'action chimique ne peut être considérable, étant donné leur petit nombre. Nous nous sommes servis toujours du même milieu; nous avonsensemencé un même nombre de tubes avec une quantité de matière fécale approximativement égale; nous avons examiné toutes les colonies poussant dans les cinq derniers tubes et nous avons établi le pourcentage de chacune d'elles. Les nombres que nous donne cette méthode sont évidemment approximatifs et ne se rapportent qu'à des bactéries poussant également dans nos milieux de culture. Ce ne sont que des moyennes portant sur 30 cas. Ils ne serviront qu'à nous donner des idées générales sur la composition de la flore.

GROUPEMENT DES BACTÉRIES DANS LES SELLES NORMALES. — Nous prendrons comme type de notre description un enfant bien portant nourri jusqu'à un an au lait maternel, puis sevré progressivement avec du lait de vache coupé, des soupes au pain et aux légumes et ne prenant, par la suite, qu'une alimentation mixte. On lui aura donné par exemple à 18 mois : le matin, une soupe au lait coupé de moitié, à midi, une soupe aux légumes, du pain et des confitures, à 4 heures, un biberon de lait coupé de moitié, le soir, une soupe aux légumes; à deux ans, on aura ajouté, aux deux repas, une pâte ou une purée de féculents; à 3 ans, des légumes verts, des entremets, des fruits; à 4 ans, on aura donné, au repas de midi et tous les deux jours, une petite quantité de viande avec sauces ou un peu de poisson.

On sait que, tant que l'enfant n'aura d'autre nourriture que

le sein, sa flore intestinale gardera le même aspect typique ; elle ne semblera formée que d'une seule espèce : le *B. bifidus*. Un examen bactériologique complet montrera, à côté de cet anaérobie strict, des anaérobies facultatifs : *B. Coli* (v. commune) et *entérocoque* ; 85 à 90 0/0 environ des colonies seront formées par le *B. bifidus*, 6 à 8 par le *B. coli*, 4 à 7 par l'*Entérocoque*. Dès que la mère ajoutera, à l'alimentation, du lait de vache coupé d'eau, on verra apparaître, dans les selles, quelque rares bacilles rigides, longs et épais, à bout carré *B. acidophilus*, et d'autres plus grêles *B. III de Rodella* ; mais l'aspect microscopique de la selle restera sensiblement le même. Vers 14 ou 18 mois, quand on aura donné des potages, il se produira une modification plus nette. Le *B. bifidus* ne paraîtra plus aussi nombreux et de forme aussi régulière. A côté des formes habituelles, en diplobacilles, on trouvera de ces formes géantes, rencontrées dans les milieux peu favorables, ou naines rencontrées dans les colonies mixtes ; les unes et les autres pouvant se renfler par endroit ou se bifurquer. En outre, les coccobacilles et les diplocoques seront en quantité plus grande.

A côté de ces espèces et des quelques bâtonnets moyens ou grêles signalés plus haut, on peut voir de très petits cocci, décolorés par la méthode de Gram, formant des amas dans les préparations. En même temps ou quelquefois plus tard apparaissent de gros bacilles, larges et trapus, en très petite quantité, un ou deux par champ microscopique, munis parfois de spores à une de leurs extrémités et gardant la coloration par la méthode de Gram. Les isolements nous montrent que la première espèce est le *staphylococcus parvulus* (Veillon et Züher), la seconde le *B. perfringens*, toutes deux anaérobies stricts. Vers deux ans, quand l'alimentation est plus variée, la flore bactérienne présente un aspect plus complexe. Aux espèces citées plus haut viennent s'ajouter quelques gros diplocoques, de forme bien arrondie, décolorés par la méthode de Gram, également anaérobies stricts : le *diplococcus orbiculus* (espèce nouvelle), puis un bacille de grandeur moyenne, prenant mal les colorants basiques, décoloré par la méthode de Gram, anaérobie strict, donnant dans les cultures de curieuses formes d'involution : le *B. funduliformis* (J. Hallé) et enfin des levures¹.

1. Levures produisant avec le glucose de l'alcool éthylique, sans action sur le lactose. Elles n'ont pas été identifiées.

Vers trois ans, quand l'enfant commence à prendre plus de matières albuminoïdes, apparaissent dans les selles des coccobacilles à extrémités très effilées, en forme de navette, isolés ou groupés par paire, décolorés également par la méthode de Gram, anaérobies stricts, animés dans les milieux liquides de mouvements onduleux : le *coccobacillus præacutus* (espèce nouvelle); puis un autre coccobacille rappelant les caractères morphologiques de l'entérocoque, mais moins polymorphe, anaérobie strict, le *coccobacillus oviformis* (espèce nouvelle). Plus tard, enfin, vers 4 à 5 ans, aux espèces précédentes s'ajouteront d'autres bactéries également anaérobies stricts; un bacille grêle, immobile, se renflant parfois en son milieu ou formant encore de très longues chaînes à articles courts, gardant la coloration de Gram : le *streptobacillus ventriosus* (espèce nouvelle) et un autre bacille beaucoup plus gros, de la taille du *B. perfringens*, mais incurvé, donnant dans les cultures de longues formes filamenteuses et se décolorant par la méthode de Gram : le *B. capillosus* (espèce nouvelle).

Ainsi, chez un enfant de 5 ans, ayant une alimentation mixte, nos méthodes d'isolement peuvent nous donner jusqu'à 14 espèces différentes, 10 anaérobies stricts et 4 facultatifs, sans compter les levures. A première vue, cette flore intestinale peut paraître bien complexe; mais si nous faisons le pourcentage des colonies, nous voyons que 80 0/0 environ sont encore formées par les microbes du nourrisson et 20 0/0 seulement font partie de la nouvelle flore. Le *B. bifidus* est toujours l'espèce dominante puisqu'il forme encore 70 0/0 des colonies totales.

Il existe donc, chez l'enfant de 4 à 5 ans, une FLORE INTESTINALE FONDAMENTALE, analogue à celle du nourrisson (*B. bifidus*, *B. coli* (v. commune¹), entérocoque; accessoirement, le *B. acidophilus*, *B. exilis*, *B. III* de Rodella) qui est la plus importante, dont l'action sera certainement prépondérante, et une FLORE INTESTINALE SURAJOUTÉE (*staphylococcus parvulus*, *diplococcus orbiculus*, *B. perfringens*, *B. funduliformis*, *coccobacillus præacutus*, *coccobacillus oviformis*, *B. ventriosus*, *B. capillosus*).

1. Le *B. coli* (v. communior) est rare. Nous ne l'avons isolé que 5 fois sur 32 cas.

Le rapport de la première à la seconde est environ de $\frac{80}{20}$.

Si nous cherchons, maintenant, à voir comment ces microbes vont se répartir dans les différentes parties du tube digestif, nous voyons que, comme chez le nourrisson, les bactéries sont peu nombreuses dans l'estomac, très rares, dans le duodenum, augmentent progressivement dans l'iléon, le cæcum et le rectum. Les anaérobies facultatifs prédominent dans les parties de l'intestin contenant encore des traces d'oxygène; les anaérobies stricts dans les parties qui en sont dépourvues. Parmi ces derniers, ceux qui domineront dans les dernières portions du tube digestif seront les ferments les plus forts : le *B. bifidus*. Dans le cæcum, par exemple, la flore anaérobie est plus variée; on y peut plus facilement isoler les anaérobies surajoutés. Dans le rectum elle est plus simple, elle semble surtout formée par le *B. bifidus*. La répartition des microbes dans l'intestin se fait donc suivant les mêmes lois¹, chez l'enfant de 4 à 5 ans et chez le nourrisson.

SELLES DES ENFANTS AYANT UNE ALIMENTATION VÉGÉTARIENNE. — Chez les enfants qui ont été sevrés avec des potages ordinaires, contenant parfois une petite quantité de lait coupé de moitié d'eau, puis alimentés par la suite avec des soupes, des légumes en purée, du pain, des matières grasses, des fruits, la flore intestinale présente un aspect plus simple encore que celle de l'enfant à l'alimentation mixte. On voit apparaître également, à mesure que la nourriture devient plus variée, des espèces nouvelles : *staphylococcus parvulus*, *B. perfringens*, *B. fundiformis* *diplococcus orbiculus* mais rarement les autres. L'aspect microscopique des selles rappelle, plus que les précédentes, l'aspect typique des selles du nourrisson. Elles contiennent, par contre, plus de levures et plus de grosses formes bacillaires décolorées ou colorées par la méthode de Gram. Mais si nous cherchons à établir un rapport entre la flore fondamentale et la flore surajoutée, nous voyons qu'il est encore plus élevé que chez l'enfant à l'alimentation mixte puisqu'il peut atteindre $\frac{90}{10}$. Les colonies de *B. bifidus* forment 80 0/0 des colonies totales.

1. Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson. H. Tissier. Fév. 1905. *Annales de l'Inst. Pasteur*.

SELLES DES ENFANTS AYANT UNE ALIMENTATION RICHE EN MATIÈRES ALBUMINOÏDES. — Nous comprendrons, sous cette rubrique, les enfants sevrés avec du lait de vache pur auxquels on donne, à un an, un ou deux œufs par jour; à 18 mois, du poisson ou de la viande avec des purées de légumes au lait, des pâtes et des biscuits. Ce mode de sevrage donne souvent des mécomptes et il est rare de voir des enfants, ainsi alimentés, atteindre l'âge de cinq ans sans avoir eu de troubles digestifs quelconques. Les modifications dans l'aspect des selles indiquées plus haut, sont ici plus profondes. Les anaérobies facultatifs se multiplient rapidement, alors que le *B. bifidus* diminue d'une façon notable. Les bactéries surajoutées pénètrent rapidement dans l'intestin et s'y multiplient nettement. On trouve toutes les espèces signalées plus haut et beaucoup plus nombreuses. Parmi elles se trouvent surtout : le *coccobacillus præacutus*, le *coccobacillus oviformis*, le *B. ventriosus*. Autre fait sur lequel nous devons insister; quand on donne ces matières albuminoïdes en quantité trop grande, il n'est pas rare de trouver des espèces de passage, anaérobies protéolytiques, tels que *B. bifermentans*. Ces bactéries ne se sont pas acclimatées dans l'intestin des enfants où elles avaient été rencontrées. A l'examen direct, la flore intestinale semble surtout formée de bacilles fins et grêles, de coccobacilles effilés dont la plupart ne gardent pas la coloration de Gram. On voit rarement des levures. Les gros bacilles décolorés par le Gram sont également moins nombreux. Le rapport de la flore fondamentale à la flore surajoutée est plus petit que chez les autres enfants. Il est environ de $\frac{70}{30}$.

50 0/0 des colonies, seulement, sont formées de *B. bifidus*.

Nous ne nous sommes occupés, jusqu'ici, que d'enfants primitivement élevés au sein, possédant une flore, antérieure au sevrage, très riche en *B. bifidus* et par conséquent très simple. Mais chez le nourrisson au biberon, aucune espèce n'est prédominante; le *B. bifidus* ne forme que 30 0/0, à peine, des colonies totales. Comment se comportera cette flore moins résistante, avec l'alimentation nouvelle? Dès que nous aurons commencé le sevrage, nous verrons, comme chez les autres enfants, apparaître dans les selles les bactéries nouvelles, mais en plus grand nombre. Il semble que leur développement y est

plus facile. L'ancienne flore ou *flore fondamentale*, d'aspect si complexe, avec ces multiples espèces (*B. acidophilus*, *B. exilis*, *B. III de Rodella*, *B. lactis aerogenes*, *B. bifidus*, *enterocoque*, *B. coli*, etc.) gardera, longtemps encore, son caractère. Au bout d'un certain temps, vers 3 ou 4 ans, surtout si l'on donne une nourriture végétarienne, sans lait pur, ces différences s'atténueront et tendront à disparaître.

Ainsi, nous voyons l'aspect bactérien des selles varier avec l'alimentation antérieure, l'alimentation habituelle et même, dans une certaine mesure, avec l'alimentation journalière. Chaque individu paraîtra posséder une flore personnelle. Nous avons vu, aussi, des enfants d'une même famille posséder dans leurs selles des particularités communes, particularités facilement explicables, étant données la vie en commun et la nourriture identique. Ces flores individuelles ou familiales ont été très bien indiquées, dès 1894, par M. Metchnikof. Mais si nous serrons de près la question, nous voyons que ces différences portent, assez peu sur le fond même de la flore, sur les microbes essentiels, sur ce que nous avons appelé la *flore fondamentale*. Cette dernière est plus ou moins importante, mais elle existe toujours. Toutes ces différences sont surtout dues aux espèces surajoutées et aux espèces de passage qui, elles, sont très variables. C'est elles seules qui donnent ces aspects particuliers qui frappent tant, au simple examen microscopique.

ROLE PHYSIOLOGIQUE DE LA FLORE INTESTINALE NORMALE. — Nous avons vu que, chez le *nourrisson*, les microbes intestinaux ne paraissent pas servir à la nutrition générale. Chez l'enfant au sein, ils sont complètement inoffensifs ; un seul produit de l'indol, le *B. coli*, il est en si petit nombre dans les selles que son effet nuisible ne peut être considérable. On ne trouve, du reste, pas de sulfoconjugués dans les urines. Ce fait, indiqué par la plupart des auteurs, nous a été de nouveau confirmé par P. Garnier qui, chez des enfants à flore intestinale normale, a trouvé pour 0^{gr}. 155 de sulfates totaux (exprimés en $\text{SO}_4 \text{ H}^2$ et p. 1000 d'urine), aucune trace de sulfoconjugués. Chez un enfant à l'allaitement mixte ayant une flore très voisine de la normale mais pas absolument identique, ce

même auteur a trouvé pour 0^{gr},455 de sulfates totaux : 0^{gr},0014 de sulfoconjugués. Chez l'enfant au biberon, les microbes intestinaux sont moins inoffensifs. Max Soldin ¹ a trouvé, dans leurs urines, 4 fois plus de sulfoconjugués que chez le nourrisson au sein (0^{gr},012 au lieu de 0^{gr},004). Mais si ces bactéries normales sont inutiles et inoffensives, elles possèdent une propriété intéressante; elles servent de moyen de protection contre l'infection. Elles sont, comme nous l'avons dit, surtout chez l'enfant au sein, en harmonie parfaite avec le développement de l'organisme.

Chez l'enfant plus âgé ayant une alimentation mixte, les bactéries de l'intestin auront-elles des propriétés analogues? Joueront-elles un rôle utile dans la digestion?

On sait que d'un repas d'épreuve ² (viande = 60 gr., pain = 100 gr., légumes farineux = 100 gr., lait = 500 gr., beurre = 30 gr.) l'analyse ne montre dans les matières fécales que des déchets insignifiants : 4 à 5 0/0 des graisses. Tout, matières albuminoïdes, hydrocarbonées, sauf cette petite quantité de graisse, a été transformé et assimilé. Les microbes, que nous avons isolés, peuvent-ils, *in vitro*, produire des actions analogues? Un seul, le *B. perfringens*, attaque les matières albuminoïdes naturelles; les autres n'ont d'action que sur les matières peptonisées. Par contre, ils agissent tous, ou presque tous, sur les hydrocarbonées : le *B. perfringens* attaque l'amidon, le glucose, le lactose, le saccharose; le *B. bifidus*, l'*enterocoque*, le *B. coli* (v. communior), le *B. acidophilus*, le *B. exilis*, le *B. III de Rodella*, le *B. funduliformis*, attaquent le glucose, le lactose et le saccharose; le *B. coli* (v. commune) le *Diplococcus orbiculus* attaque le glucose et le lactose; le *Staphylococcus parvulus* le glucose et le saccharose; le *B. præacutus* le *coccobacillus oviformis*, le *B. ventriosus* seulement le glucose. Ils donnent des acides lactique, acétique, butyrique, propionique, valériannique, etc. Le *B. bifidus* donne une acidité d'arrêt élevé = 4.90 (en S0⁴H² p. 1000); le *B. acidophilus* et le *B. perfringens* = 3.43; l'*enterocoque* et le *B. exilis* = 2.45; le *B. coli*, le *staphyl. parvulus* = 1.96; le *B. III de Rodella*, le *B. funduliformis*, le *B. præacutus*, le *diplococcus orbiculus* = 1.47; le *coccob. oviformis*, le *B. ventriosus*

1. MAX SOLDIN, *Jahrbuch für Kinderheilk.* Mars 1907.

2. GAUTHIER RENÉ, *Thèse de Paris* 1905.

≈ 0.98 ; le *B. capillosus* $= 0.49$. La plupart enfin semblent agir sur les matières grasses neutres, les saponifient et les transforment en savons alcalins. Ces microbes pourraient donc aider, dans une certaine mesure, les sucs digestifs, s'ils étaient placés comme dans nos milieux de culture, dans des conditions de vie favorables. Ces conditions sont-elles réalisées dans le tube digestif? Dans l'estomac d'un jeune chien, sacrifié 3 heures après le repas, (soupe au pain et pomme de terre $= 200$ gr., viande. $= 30$ gr., graisse $= 30$ gr., glucose $= 20$ gr.) nous avons encore trouvé des matières albuminoïdes naturelles, des protéoses, des graisses, des matières amylacées, mais aucune trace de glucose. Le milieu était acide, par contre peu favorable au développement microbien. Nous n'avons, du reste, obtenu dans nos cultures que quelques rares colonies de *B. coli* et d'*enterocoque*. Dans la première moitié de l'intestin grêle, la réaction du milieu était neutre; il contenait encore des traces de matières albuminoïdes, des protéoses, des graisses, des matières amylacées et du glucose. Ernst ¹ n'a pas trouvé, chez le chien, de peptone, mais une grande quantité de tyrosine. Nencki et Sieber ² ont signalé chez l'homme des peptones, des albumoses, du glucose, de l'alcool, des acides lactique et acétique en petite quantité. C'est donc un excellent milieu de culture, et pourtant, les examens bactériologiques indiquent la présence de peu de bactéries: *B. coli*, *enterocoque*, *B. bifidus*, *B. perfringens*. Ceci tient à la présence de sécrétions empêchantes: bile, sécrétions pancréatiques et intestinales. Il s'est produit un travail microbien, puisqu'on trouve des traces d'indol et quelques acides de fermentation; mais il est de bien peu d'importance. Dans l'iléon, le milieu chimique devient beaucoup plus pauvre, du fait de la résorption intestinale. Il n'y a plus que des traces de peptones, la tyrosine diminue (Ernst). On trouve encore des graisses, des matières amylacées et des traces de glucose. Le développement microbien est plus facile; ce sont encore les bactéries anaérobies facultatives qui dominent. Il y a plus d'acides gras, plus d'indol. Ernst a signalé du scatol et des traces de phénol. Dans le cœcum, là où le microscope nous montre une prolifération microbienne intense, le milieu chi-

1. ERNST, *Zeitsch f. phys. Ch.* XVI, page 246.

2. NENCKI et SIEBER, *Arch. f. expér. path.* XXVIII.

mique ne contient plus de protéose, ni même de tyrosine (Ernst), ni de glucose, mais une petite quantité de matières amylacées et de graisses. Dans le reste du gros intestin, les bactéries ne trouveront plus, comme aliments azotés, que des déchets insignifiants, elles auront encore à leur disposition quelques matières hydrocarbonées. C'est ce qui permettra aux anaérobies, ferments acides forts, de se développer et de devenir prédominants. Ainsi, l'organisme ne semble permettre à la flore microbienne de prendre son entier développement que quand la plus grande partie du travail utile est terminé et encore, en asséchant le milieu dans le gros intestin, s'oppose-t-il à sa multiplication excessive. De tous les produits de fermentation, seuls les acides seraient peut-être utilisables. Ils sont en trop petites quantités pour que leur rôle nutritif soit important. Nous ne pouvons que répéter ce que nous avons dit pour le nourrisson ; *les fermentations microbiennes normales ne paraissent pas, jusqu'à présent, servir à la nutrition de l'organisme* ¹.

Mais, à côté de ces acides, il existe d'autres produits de fermentation, indol², scatol, phénols, AzH^3 , etc., dont la résorption ne peut être que nuisible. Sont-ils en quantité assez grande pour produire une action réellement toxique? Deux espèces seulement, parmi toutes celles que nous avons isolées, produisent de l'indol en culture : le *B. Coli* et le *B. Perfringens*. Dans la première partie de l'intestin grêle, elles en produisent peu, comme nous venons de le voir, d'abord à cause du petit nombre de microbes actifs, en second lieu à cause de la présence du glucose³. Dans les autres portions du tube digestif elles pourront en donner de plus grande quantité. Quant au scatol, aux phénols ou corps similaires, nous connaissons mal les bactéries qui les produisent. Les analyses d'urine montrent que la quantité des phénols éliminés n'est pas considérable. Pour 4^{gr},816 d'acide sulfurique des sulfates totaux, on trouve 0^{gr},042 de SO_4H^2 des sulfoconjugués, pour 1,000 d'urine. Le

1. Nous ne sommes pas parvenus à isoler, avec nos moyens habituels de culture, des bactéries digérant la cellulose.

2. Les expériences de Porchet et Hervieux prouvent que cette substance n'est pas toxique. Ce fait diminue la valeur semeiologique des sulfoconjugués urinaux.

3. Pour qu'il y ait production d'indol en présence de glucose, il faut que la quantité de ce sucre soit inférieure à 10 p. 1000 v. Tissier et Martelly, *Annales de l'Inst. Pasteur*, Déc. 1902, p. 880.

rapport de l'acide de ces sulfo-éthers à 100 gr. d'acide des sulfates totaux, qui est en moyenne chez le nourrisson de 0,25, atteint chez l'enfant de 5 ans à l'alimentation mixte 2 à 4. On peut dire que chez eux la *Flore intestinale est moins inoffensive que chez le nourrisson*. Si nous comparons ces fermentations intestinales à celles qui se produisent dans une viande en putréfaction, on voit qu'il n'existe, entre les deux, aucun point commun. On ne trouve pas, dans l'intestin, ces ferments simples, puissants, qui détruisent rapidement la molécule albuminoïde; on ne trouve que des ferments mixtes et encore des ferments peptolytiques (hormis le *B. perfringens*). Il n'y a donc pas, à proprement parler, chez ces enfants, de *putréfaction intestinale*. C'est à peine s'il s'en produit une ébauche, décelable par l'indol, le scatol ou les phénols. Ce n'est pas à la flore fondamentale, l'ancienne flore du nourrisson, qu'il faut l'attribuer, mais à la *flore surajoutée* qui possède des espèces comme le *B. perfringens*. Il est encore un autre point sur lequel nous devons attirer l'attention : cette dernière flore contient des espèces pathogènes (*B. perfringens*, *B. funduliformis*, *Staphyl. parvulus*) capables de pénétrer dans la circulation générale, à la faveur d'un trouble de nutrition, pour former ou aider à former des processus gangreneux (Veillon et Züber).

Avec une alimentation contenant suffisamment d'hydrates de carbone, les microbes intestinaux, ferments mixtes, trouveront un milieu chimique favorable et le plus fort d'entre eux, le *B. bifidus*, deviendra prédominant dans la dernière moitié du gros intestin. Là, son action sera doublement favorable. Par sa production d'acides, il excitera, d'une part, le péristaltisme¹ intestinal, amenant les évacuations quotidiennes, empêchant la constipation de se produire; il exercera d'autre part une action empêchante, non seulement sur les bactéries nuisibles, venues du dehors, mais encore sur toute cette flore surajoutée dont l'action ne peut être que mauvaise. Ainsi la *Flore fondamentale reste inoffensive et empêchante*, telle qu'elle était chez le nourrisson.

Quand l'enfant ne prendra qu'une alimentation végétarienne,

1. VEILLON ET ZÜBER, *Arch. de méd. exp.*, n° 4, juillet 1898.

2. BOKAI a constaté que les acides de fermentation produisaient chez le chien une exagération de péristaltisme intestinal.

l'intestin contiendra plus de sucre et les bactéries productrices d'indol ou de phénols en produiront moins. Le *B. bifidus* aura un développement plus considérable. Il formera, comme nous l'avons vu, près de 80 0/0 des colonies. Son action favorable n'en sera que plus grande. Il est évident aussi que les bactéries surajoutées, qui se développeront le mieux, seront des ferments mixtes. Quelques-unes posséderont même une acidité d'arrêt élevée. *B. perfringens* = 343, *Staphyl. parvulus* = 1.96 *B. funduliformis* et *D. orbiculus* = 1.47. En ne considérant que leur fonction acidifiante, leur rôle pourrait paraître alors plutôt favorable; mais elles en ont d'autres, comme nous venons de le voir, plus à redouter. Ces dernières fonctions sont, évidemment, atténuées, puis arrêtées, dans les milieux sucrés du fait de la production simultanée d'acide; mais, si atténuées soient-elles, elles seraient encore à craindre si ces espèces pouvaient se développer à leur aise. L'action empêchante de *B. Bifidus* sera donc, même dans ces cas, encore bienfaisante. Les selles auront une réaction acide, dégageront une faible odeur (odeur de tannerie). Les urines contiendront moins encore de sulfoconjugés. Pour 0^{gr},344 de SO^4H^2 des sulfates totaux, on trouve 0^{gr},0029 de SO^4H^2 des sulfoconjugés. Le rapport de leur acide à 100 grammes d'acide sulfurique des sulfates totaux = 0,87, à 2. La flore intestinale sera donc encore moins nuisible que dans le cas précédent. Son action empêchante rappellera celle des enfants au sein. L'observation clinique confirme cette manière de voir. La constipation est inconnue chez les enfants végétariens et, dans tous les cas que nous avons pu suivre, nous n'avons jamais constaté de troubles digestifs.

Quand l'alimentation sera riche en matières albuminoïdes animales, nous nous trouverons en présence de phénomènes inverses. Les bactéries productrices d'indol et de phénols en donneront beaucoup plus, ayant moins de sucre à leur disposition. Le *B. bifidus* se développera moins bien; il formera, au

1. Cette petite quantité des sulfoconjugés chez les végétariens a été indiquée par de nombreux auteurs : Hoppe-Seyler, Rothmann, Gottwald, Krauss, Hirschler, Combes, etc.

Toutes les analyses dont il est fait mention dans ce mémoire ont été faites par M. Paul Garnier. Le dosage des sulfoconjugés a été fait par la méthode de Baumann.

plus, 50 0/0 des colonies. Les espèces surajoutées se développeront plus aisément. Parmi elles, le *Coccob. Præacutus*, le *Coccob. Oviformis*, le *B. Ventriosus* ferments acides insignifiants ou nuls, attaquant surtout les protéoses, ne feront qu'augmenter l'alcalinité du milieu. Les selles seront neutres ou alcalines, elles dégageront une odeur sulfureuse, fécaloïde analogue à celle de l'adulte. Les urines seront plus riches en sulfo-conjugués. Pour 1^{er}286 d'acide sulfurique des sulfates totaux, on trouve 0^{gr},06 de SO_4H_2 des sulfoconjugués, p. 1000 d'urine. Le rapport de l'acide de ces sulfo-éthers à 100 gr. celui des sulfates totaux = 4 à 6. La flore intestinale est moins inoffensive et moins empêchante. Si on persiste dans cette alimentation mauvaise, le milieu chimique intestinal, riche en déchets protéiques, nettement alcalin, sera facilement infecté par des espèces pathogènes dont la plupart ne peuvent se développer que dans de semblables milieux. Le *B. bifidus* disparaîtra ou n'arrivera plus à former que 20 0/0 environ des colonies totales. Le rapport de l'acide sulfurique des sulfoconjugués à 100 gr. de celui des sulfates totaux pourra atteindre, avec une alimentation identique, 23. Les troubles digestifs deviendront de plus en plus fréquents et compromettront le développement régulier de l'enfant.

Si donc on veut éviter les troubles digestifs si fréquents au moment du sevrage, le plus simple sera de conserver chez l'enfant, le plus longtemps possible, au moyen d'une alimentation surtout végétarienne, les propriétés empêchantes de sa flore intestinale fondamentale.

DESCRIPTION DES MICROORGANISMES. — Nous ne donnerons que la description des espèces nouvelles, exception faite pour le *B. fundiliformis* de J. Hallé, dont nous avons dû préciser les propriétés chimiques.

COCCOBACILLUS PRÆACUTUS. — Nous avons rencontré cette espèce chez des enfants à l'alimentation mixte; elle est surtout fréquente chez les enfants alimentés avec du lait de vache pur, des œufs ou de la viande.

Elle se présente, dans les selles, sous la forme d'un coccobacille à extrémités très fines et très pointues, en forme de navette, rappelant un peu le spirille de la bouche, tantôt isolé, tantôt groupé par 2 ou 3 et même quelquefois en longues chaînes de 8 à 10 éléments. La longueur moyenne de chaque

élément est environ 5 à 10 μ . Dans les cultures, ce coccobacille se montre peu polymorphe et dans les colonies un peu vieilles, on peut trouver, à côté des formes que nous venons de décrire, des formes renflées possédant un point brillant à l'une de ses extrémités. Il se colore très bien par les colorants basiques ordinaires, sauf par la méthode de Gram.

Il est très mobile. Ses mouvements sont onduleux et très rapides.

Sa vitalité dans les milieux sucrés peut atteindre 8 à 10 jours. C'est un anaérobie-strict poussant à 37° et à 22°.

En gélose sucrée profonde, il pousse en 24 ou 36 heures, en donnant de fines colonies transparentes, très régulières, de forme lenticulaire dont les plus grosses peuvent atteindre 1 à deux millimètres. Elles donnent des gaz abondants fragmentant rapidement le milieu. La gélose devient acide et ne dégage aucune odeur. Il pousse mal en gélatine en donnant de fines colonies qui ne liquéfient jamais le milieu.

Dans les milieux liquides il produit un trouble léger. Au bout de quelques jours, il se forme un dépôt pulvérulent. Il ne coagule pas le lait. Il n'attaque pas le blanc d'œuf cuit.

Il est sans action sur le lactose et le saccharose, mais attaque le glucose en donnant une acidité d'arrêt de 1,47 p. 1000 en SO^4H^2 .

Il n'attaque que les protéoses, sans jamais donner d'indol. Il dédouble la crème du lait et forme des savons alcalins.

Il ne s'est jamais montré pathogène dans les 5 cas où il a été rencontré.

Il diffère du *B. fusiformis* de Veillon et Züber par sa mobilité, sa vitalité plus grande.

COCCOBACILLUS OVIFORMIS. — Cette espèce a été rencontrée chez des enfants ayant une alimentation mixte ou riche en matières albuminoïdes. Elle a été signalée, la première fois, croyons-nous, par Jacobson qui n'a malheureusement pas pu l'étudier.

Elle se présente, dans les selles, soit sous la forme d'un court batonnet ou d'un coccus allongé, soit, plus souvent, sous la forme de diplocoques à grains ovales, rappelant assez bien les formes ordinaires de l'entérocoque. Dans les milieux liquides ce coccobacille peut donner des chaînes de 5 à 6 éléments. Il est polymorphe. Il se colore bien par les méthodes ordinaires, ainsi que par la méthode de Gram. La couleur se fixe de préférence aux extrémités.

Il est immobile. Sa vitalité ne dépasse guère 5 à 6 jours. C'est un anaérobie strict poussant à 37° et à 22°.

Il donne, dans la gélose profonde, des colonies lenticulaires, opaques, blanchâtres et de grosseur très variable. Les plus grosses peuvent atteindre 2 à 3 mm. Il ne donne jamais de gaz. Il pousse en gélatine en donnant de fines colonies qui ne liquéfient jamais le milieu.

Dans les milieux liquides il donne un trouble léger avec dépôt pulvérulent. Il ne coagule jamais le lait et n'attaque pas le blanc d'œuf.

Ses propriétés chimiques, semblent assez spéciales. Sans action sur le lactose et le saccharose il attaque le glucose en donnant une acidité faible 0,98 (p. 1000 en SO^4H^2). Il attaque les peptones sans produire d'indol.

Il ne s'est jamais montré pathogène. Cette espèce est très voisine du coccobacille rencontré par Veillon et Morax dans une périecystite lacrymale gangreneuse. Elle n'en diffère que par quelques caractères : absence de gaz fétides dans les cultures, aucune action pathogène.

DIPLOCOCCUS ORBICULUS. — Cette espèce se rencontre fréquemment dans les selles de jeunes enfants, elle est facile à reconnaître au simple examen direct. C'est un très gros diplocoque à grains réguliers bien arrondis accolés par une surface plane, deux à trois fois plus gros que le gonocoque. Dans les cultures, on voit parfois un de ses grains s'allonger ou même se subdiviser en grains plus petits. Il se colore bien par les colorants ordinaires ; mais se décolore par la méthode de Gram.

Il est immobile et est facilement tué par une température de 60°. C'est un anaérobie strict ne poussant qu'à 37°. Sa vitalité ne dépasse guère 6 à 8 jours.

Dans la gélose profonde, il donne en 36 ou 48 h. de grosses colonies lenticulaires très régulières, peu épaisses, d'une coloration blanchâtre, presque transparentes. Il ne donne jamais de gaz. On n'obtient pas de culture en gélatine à 22°.

Il trouble légèrement les milieux liquides et donne, au bout d'un certain temps, un dépôt grumeleux. Il ne coagule pas le lait et n'attaque pas le blanc d'œuf cuit.

Il attaque le glucose en donnant une acidité d'arrêt de 1.47 à 1.96. Son action est plus faible sur le lactose (0.49). Il n'attaque pas la saccharose. Il attaque les protéoses sans jamais donner d'indol.

Il ne s'est jamais montré pathogène.

Cette espèce se rapproche beaucoup du *Dipl. reniformis* de Cottet¹. La bactérie isolée par ce dernier auteur, est beaucoup plus petite, est pathogène et donne des cultures dégageant une odeur désagréable.

BACILLUS VENTRIOSUS. — Cette espèce est beaucoup plus rare que la précédente. Nous ne l'avons rencontrée que chez des enfants ayant une alimentation analogue à celle de l'adulte. Elle existe également chez le chien.

Elle se présente, dans les selles, sous forme d'un petit bacille fin, rigide, à bouts carrés, isolé ou groupé par 2 ou 3 éléments.

Dans les milieux solides, il donne parfois de très longues chaînes de 40 à 50 éléments très courts. Quand le milieu est peu nutritif, il se renfle à sa partie médiane et donne l'aspect d'un « peloton de jardinier. » Il se colore par les colorants basiques ordinaires et par la méthode de Gram. Les parties renflées gardent fortement la couleur.

Il est immobile, ne donne pas de spores. Il meurt dans les cultures au bout de 4 à 5 jours. Il ne se développe qu'à 37°. C'est un anaérobie strict. Dans la gélose profonde il donne de fines colonies lenticulaires régulières à bord net, qui, lorsqu'elles sont bien développées, peuvent atteindre 2 à 3 mm. Il ne donne jamais de gaz. Il pousse dans la gélatine à 37° sans la peptoniser.

1. COTTET, *Thèse de Paris*, 1899.

Dans les milieux liquides, il donne un trouble léger qui forme par la suite un dépôt pulvérulent. Il ne coagule pas le lait.

Ce bacille n'attaque ni le lactose, ni la saccharose. Il donne dans les milieux glucosés une acidité ne dépassant pas 0.98 p. 1000 en SO^4H^2 .

Il est sans action sur les albuminoïdes naturels, n'attaque que les protéoses, sans donner d'indol. Il n'est pas pathogène.

BACILLUS CAPILLOSUS. — Nous n'avons rencontré cette espèce que deux fois chez des enfants ayant une nourriture mixte.

Elle se présente dans les selles sous la forme d'un gros bacille incurvé ou encore sous la forme de filaments plus ou moins infléchis. Il rappelle par sa forme et sa grosseur le *B. perfringens* dont il diffère par les caractères de coloration.

Dans les milieux de culture solides, cette bactérie se montre sous des aspects très différents. Ce sont, tantôt des formes bacillaires, régulières, isolées ou en chaînes de 2 à 3 éléments, tantôt de longs filaments enroulés sur eux-mêmes, enchevêtrés parfois en « peloton de cheveux ». Il donne aussi des formes en spirales, à masse centrale épaisse, à extrémités fines, analogues à celles qu'on rencontre parfois dans les vieilles cultures de *B. Acidophilus*.

Ce bacille prend bien les colorants basiques ordinaires ; mais est complètement décoloré par la méthode de Gram.

Il est immobile, ne donne pas de spores. Sa vitalité peut atteindre 10 à 15 jours. C'est un anérobie strict ne poussant qu'à 37°.

Dans la gélose sucrée il donne, au bout de 48 heures, de fines colonies granuleuses, irrégulières. En se développant, elles émettent de fins prolongements rayonnants, assez réguliers, qui peuvent se diviser à leur tour. Il ne donne jamais de gaz. Il pousse dans la gélatine à 37° sans peptoniser le milieu qui redevient solide par le refroidissement.

Il se développe mal dans les milieux liquides et ne donne qu'un trouble insignifiant. Il ne coagule pas le lait.

Il attaque légèrement le glucose en donnant une faible quantité d'acide : 0.49 p. 1000 en SO^4H^2 . Il est sans action sur le lactose et le saccharose. Il n'attaque pas les matières albuminoïdes non hydratées ; mais seulement les protéoses, sans jamais donner d'indol.

Il ne s'est pas montré pathogène pour les animaux de laboratoire.

BACILLUS FUNDULIFORMIS. — (J. Hallé) ¹. Nous avons rencontré cette espèce chez 7 enfants ayant une alimentation mixte, composée surtout de végétaux. Nous l'avons également trouvée chez le chien.

Nous renvoyons pour la description morphologique de ce bacille à la thèse de Jean Hallé, nous ne donnerons que ses caractères chimiques.

Il attaque le glucose le lactose et le saccharose en produisant une acidité d'arrêt pouvant osciller entre 1.47 et 1.96 p. 1000 en SO^4H^2 .

Il est sans action sur les matières albuminoïdes naturelles mais dédou-

1. J. HALLÉ, *Thèse de Paris*, 1898.

ble les protéoses sans donner d'indol. Il produit dans cette attaque une petite quantité d'hydrogène sulfuré.

Dans les 7 cas où nous l'avons trouvé, il ne s'est montré pathogène qu'une fois.

CONCLUSIONS

La flore intestinale de l'enfant de 4 à 5 ans se transforme à mesure que la nourriture habituelle se fait plus variée. Composée au début du sevrage comme celle du nourrisson, elle s'enrichit, petit à petit, d'une série d'espèces qui ont tendance à s'acclimater dans l'intestin. Si bien qu'à l'âge de 5 ans, alors que le sevrage est complètement terminé, que l'enfant s'alimente à peu près comme l'adulte, on peut considérer dans l'intestin : une *flore fondamentale*, vestige de la flore du nourrisson, de composition analogue, comprenant d'abord le *B. bifidus*, l'*enterocoque*, le *B. coli* et accessoirement le *B. acidophilus*, le *B. exilis*, le *B. III* de Rodella, qui est fixe et constante et une *flore surajoutée* de composition très variable (*B. perfringens*, *coccobacillus præcutus*, *staphylococcus parvulus*, *B. funduliformis*, *B. capillosus*, *B. ventriosus*, *diplococcus orbiculus*, *coccobacillus oviformis*, *levures*). La première est de beaucoup la plus importante; elle est à la seconde, chez l'enfant végétarien, dans le rapport de 90 à 10 et 80 0/0 de colonies sont encore formées par le *B. bifidus*. Chez l'enfant ayant une alimentation mixte, le rapport est de 80 à 20 et 70 0/0 des colonies sont formées de *B. bifidus*. Chez l'enfant alimenté avec une assez grande quantité de matières albuminoïdes animales, le rapport est de 70 à 30, avec 50 0/0 seulement de colonies de *B. bifidus*.

Pas plus que chez le nourrisson, l'action chimique des microbes intestinaux ne sert à l'organisme, mais elle n'est pas aussi inoffensive, comme semble le démontrer la teneur des urines en sulfoconjugués. Peu nuisible chez l'enfant végétarien, elle l'est plus chez l'enfant ayant une alimentation mixte et le devient plus encore chez l'enfant prenant beaucoup de matières albuminoïdes d'origine animale. Cette action mauvaise est surtout le fait de la *flore surajoutée* dont certains éléments possèdent en outre des propriétés pathogènes et sont capables de créer des processus gangreneux. En général, plus une flore

intestinale sera riche en espèces surajoutées, plus son action nuisible sera grande. Les microbes de la *flore fondamentale*, au contraire, auront, comme chez le nourrisson, des propriétés empêchantes. Un régime alimentaire, qui permettra à ces espèces de persister dans le tube digestif et d'y garder une action prépondérante, sera le meilleur des régimes, celui qui mettra l'organisme le plus à l'abri des infections intestinales. L'observation clinique vient à l'appui de cette manière de voir.

Le 26 juillet 1907.

EXPLICATION DES PLANCHES I ET II

Fig. 1. — SELLE D'UN ENFANT NORMAL AGÉ DE 19 MOIS. Nourri au sein par la mère jusqu'à 6 mois. De six mois à un an, on donne, en plus du sein, du lait bouilli coupé de moitié d'eau. A un an, on supprime graduellement le lait. On donne, dans la journée, 4 potages au pain et aux légumes et quelquefois des bouillies au lait coupé de moitié d'eau. Depuis 2 mois on ajoute au repas de midi une purée de pomme de terre. L'enfant n'a jamais été malade (obs. 79) $g = 1,500$ diamètres.

Fig. 2. — SELLE D'UN ENFANT NORMAL AGÉ DE CINQ ANS. ALIMENTATION VÉGÉ; TALE depuis le sevrage. Régime actuel: le matin: soupe aux légumes ou panade - à midi et le soir: un potage, un légume farineux ou une pâte, un légume vert; un dessert (confitures, fruits cuits ou gâteaux secs) (obs. 99) $g = 1,500$ d.

Fig. 3. — SELLES D'UN ENFANT NORMAL AGÉ DE QUATRE ANS ET DEMI. ALIMENTATION CONTENANT DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES D'ORIGINE ANIMALE. (lait, fromage, œufs, viande ou poisson) depuis le sevrage. Régime actuel le matin: soupe; à midi: un peu de viande, un légume farineux ou une pâte, un légume vert cru en salade, un dessert (fruits cuits ou crus ou petits fours; à 4 h: pain et beurre; le soir: soupe aux légumes ou du lait, un œuf à la coque, une salade. $g = 1,500$ d.

Fig. 4. — COCCOBACILLUS PROEACUTUS (espèce nouvelle), culture en gélose de 4 jours (obs. 89) $g = 1,500$ d.

Fig. 5. — COCCOBACILLUS OVIFORMIS (espèce nouv.), culture en gélose de 4 jours (obs.) $g = 1,500$ d.

Fig. 6. — DIPLOCOCCUS ORBICULUS (espèce nouv.), culture en gélose de 4 jours (obs. 86) $g = 1,500$ d.

Fig. 7. — BACILLUS VENTRIOSUS (espèce nouv.), culture en gélose de 4 jours (obs. 100) $g = 1,500$ d.

Fig. 8. — BACILLUS CAPILLOSUS (espèce nouv.), culture en gélose de 4 jours (obs. 77) $g = 1,500$ d.

ERRATA

Dans le numéro de décembre 1907, page 991, — Mémoire intitulé : Influence du ferment lactique sur la flore des excréments des souris, lire : *G. Belonovski* au lieu de *J. Belonovski*.

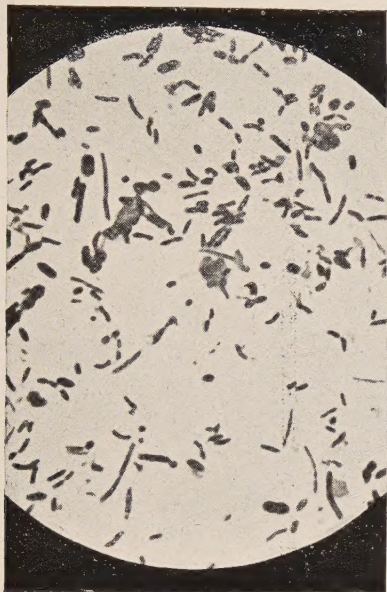
Dans le n° du 25 janvier 1908. — Travail de M. Nicolle et E. Pozerski :

Page 50, ligne 26. Au lieu de : Actions indirectes, lire : Action directe.

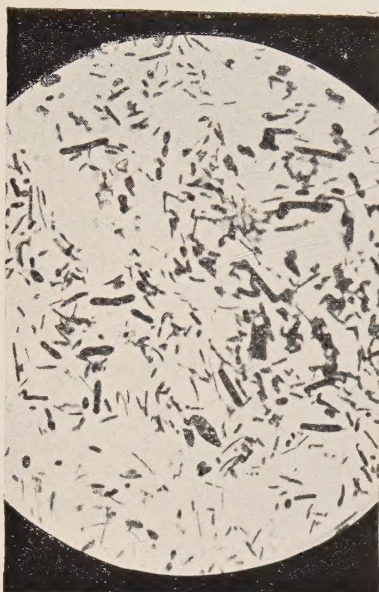
Page 51, ligne 9. Au lieu de : Prédominance même très marquée), lire : prédominance (même très marquée).

Sceaux. — Imprimerie Charaire.

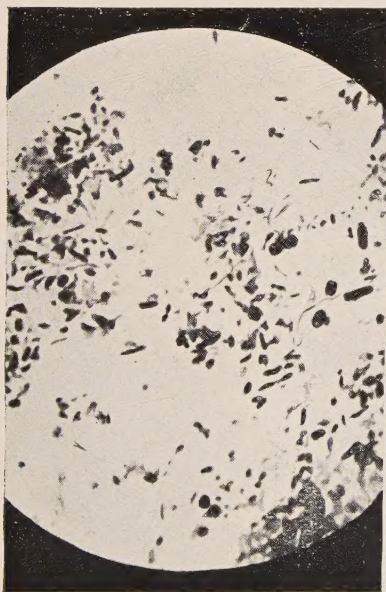
Le Gérant : G. MASSON.



1

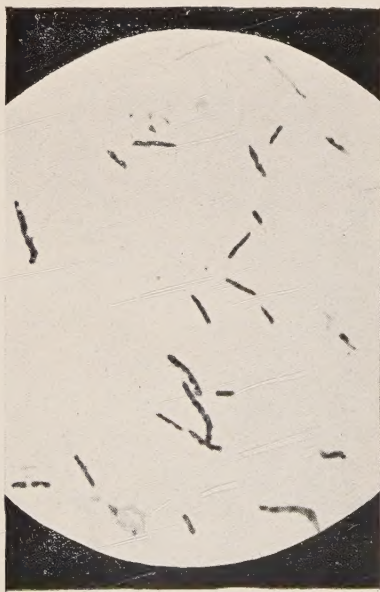


2



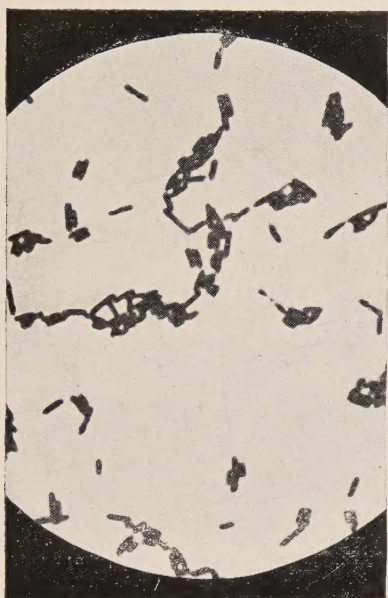
3

Jeanlet, phot

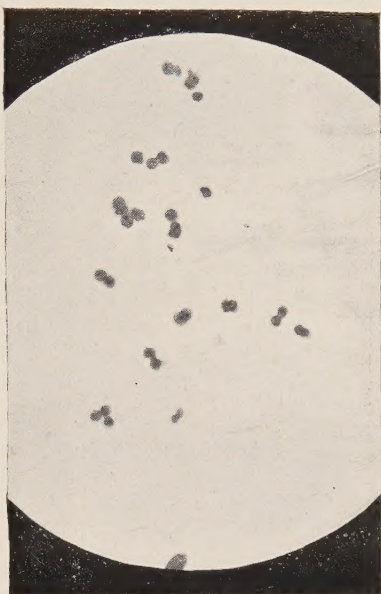


4

Imp. Bouchet, Cassel



5



6



7

Jeantet, phot.



8

Imp. Boucnet, Cusset

